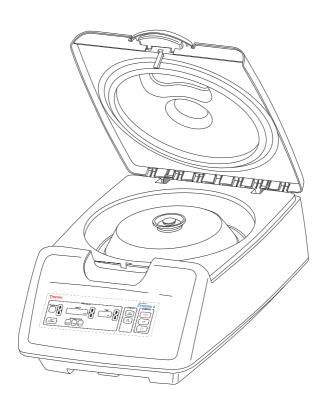
Shandon Cytospin 4

Manual de operaciones - Español A78310250ES 5ª Edición





© 2004 Thermo Fisher Scientific, Reservados todos los derechos.

Thermo Shandon Limited es una compañía acreditada por las normas ISO 9001 y TickIT. Thermo Fisher Scientific es el nombre comercial de Thermo Shandon Limited.

Clorox® es una marca comercial de Clorox Company.

Decon® es una marca comercial de Decon Laboratories Limited.

CytoRich® es una marca comercial de TriPath Imaging Inc.

Carbowax® es una marca comercial de Union Carbide Corporation.

Ficol® es una marca comercial de Amersham Biosciences.

Hypaque® es una marca comercial de Stirling Drug.

Las restantes marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus filiales.

Thermo Fisher Scientific dedica todos sus esfuerzos a asegurar que la información contenida en la documentación de soporte técnico es correcta y está formulada con claridad, pero no acepta ninguna responsabilidad por errores u omisiones que se produzcan en dicha documentación. El desarrollo de productos y servicios Thermo es una labor continua. Asegúrese de que toda información publicada que utilice para consulta está actualizada y corresponde al estado del producto. Si es necesario, consulte a Thermo o a su representante local.

Queda prohibida la copia, fotocopia, reproducción, traducción o conversión de este manual, ya sea total o parcialmente, a cualquier formato electrónico o legible por máquina sin el consentimiento previo por escrito de Thermo.

Toda la información que contiene el presente manual está patentada y es confidencial, y pertenece exclusivamente a Thermo Fisher Scientific. Este manual está amparado por la ley de propiedad intelectual y, por tanto, queda prohibida su reproducción. Este manual es para uso exclusivo de las personas para las que Thermo Fisher Scientific lo ha puesto a disposición.

Direcciones de contacto

Patología anatómica 93-96 Chadwick Road Astmoor, Runcorn Cheshire, WA7 1PR, Reino Unido

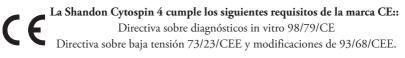
Fax: +44 (0) 1928 562627 www.thermo.com/pathology

Tel.: +44 (0) 1928 562600

Patología anatómica 4481 Campus Drive Kalamazoo MI49008, EE.UU.

Tel.: 1-800-522-7270

Fax: +1 269-372-2674 www.thermo.com/pathology





Índice

	Introducción, seguridad	5
2	Descripción Descripción general	9
3	Instalación y configuración Procedimiento, desembalaje, instalación del equipor requisitos eléctricos y accesorios	11
4	Controles Introducción, panel de control principal	27
5	Funcionamiento Introducción, funcionamiento de la Cytospin	35
6	Limpieza y mantenimiento	51
7	Resolución de problemas Introducción, comprobación del estado del equipo códigos de error, resultados de resolución de proble	
8	Especificaciones y accesorios	75
9	Declaración de garantía Declaración de garantía, declaración de conformid	81 ad
Apéndice A	Gráfico de flujo de trabajo estándar	85
Appendix B	Methodology Guidelines	87
Apéndice C	Instrucciones de transporte Instrucciones, declaración de seguridad de devoluc producto	109 ión de
Apéndice D	Lista de reactivos autorizados	113
	Índice alfabético	115

Símbolos

A lo largo de este manual y en el equipo se utilizan los siguientes símbolos y convenciones.



CUANDO APARECE EN EL EQUIPO O EN UN DOCUMENTO, ESTE SÍMBOLO ADVIERTE QUE DEBEN SEGUIRSE LAS INSTRUCCIONES PARA QUE EL EQUIPO FUNCIONE DE FORMA CORRECTA Y SEGURA. CONSULTE ESTE MANUAL DE OPERACIONES CADA VEZ QUE APAREZCA ESTE SÍMBOLO EN EL EQUIPO. ▲



ESTE SÍMBOLO SE UTILIZA EN EL EQUIPO O EN UN DOCUMENTO PARA ADVERTIR QUE PUEDE HABER UN PELIGRO BIOLÓGICO ASOCIADO AL EQUIPO. ACTÚE SIEMPRE CON SENTIDO COMÚN Y TENGA PRESENTE LAS MUESTRAS UTILIZADAS. ADOPTE LAS PRECAUCIONES NECESARIAS. ▲



El documento incluye un aviso cuando existe peligro de lesiones personales o de dañar las muestras o el equipo.

Nota Las notas aportan más información sobre una tarea o instrucción, pero no forman parte de ésta.

Capítulo 1 Bienvenida

Le presentamos la centrífuga Shandon Cytospin® 4 de Thermo Fisher Scientific. Diseñado y fabricado con atención, este equipo es seguro y fácil de utilizar y de mantener.

La Shandon Cytospin 4 es una citocentrífuga autónoma cuya función principal es depositar en un portaobjetos de cristal una única capa de células suspendidas en un líquido cualquiera bajo las máximas condiciones de seguridad posibles.

Este manual contiene instrucciones para el correcto uso y funcionamiento de la Shandon Cytospin 4.

Seguridad

Los productos de Thermo están diseñados para ofrecer un funcionamiento práctico y fiable, y cumplen las normas de seguridad vigentes. El uso de la Shandon Cytospin 4 no conlleva ningún riesgo si se utiliza conforme a las instrucciones indicadas en este manual. Sin embargo, una manipulación incorrecta puede ocasionar daños en el equipo y riesgos para la salud. Es importante respetar las siguientes precauciones de seguridad:



ESTA SECCIÓN CONTIENE INFORMACIÓN IMPORTANTE RELATIVA A LA SEGURIDAD. LÉALA CON ATENCIÓN. A

1 Todos los usuarios deben leer y comprender el Manual de operaciones, y manejar la unidad de acuerdo con las instrucciones exclusivamente. La protección que proporciona el equipo puede verse perjudicada si no se siguen las instrucciones.

- 2 Tal y como se suministra, la Shandon Cytospin 4 cumple la normativa de seguridad IEC1010-2-020.
- 3 En el interior del equipo existen voltajes potencialmente mortales que pueden superar los 110 V CA o 50 V CC. No retire las cubiertas de acceso a menos que reciba instrucciones específicas para hacerlo.
- 4 Este equipo debe estar conectado correctamente a una toma de tierra adecuada a través de la red eléctrica.
- 5 No retire ningún panel ni cubierta. La Shandon Cytospin 4 no contiene piezas que el usuario pueda reparar.
- 6 La Shandon Cytospin 4 pesa 12 kilogramos aproximadamente. Si fuese necesario, pida ayuda para trasladarla o levantarla.
- 7 La Shandon Cytospin 4 no debe utilizarse con materiales inflamables o disolventes, ni con materiales explosivos o susceptibles de reacción química.
- 8 Cargue y descargue siempre el rotor sellado en una cámara de seguridad biológica a prueba de vapores. Tenga en cuenta que las muestras son peligrosas desde el punto de vista biológico.
- 9 Los sellos biológicos y otros componentes de seguridad biológica no son completamente fiables como única medida de protección contra infección por microorganismos patógenos.
- 10 Es importante aplicar las normas habituales de seguridad y una buena práctica de laboratorio. Emplee siempre el sentido común y las mejores prácticas conocidas cuando utilice el equipo.
- 11 Consulte los procedimientos establecidos por el laboratorio y las especificaciones técnicas del

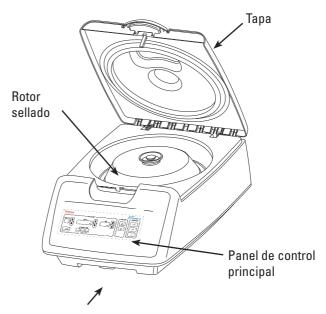
fabricante cuando utilice reactivos.

- 12 Cualquier duda o problema debe consultarse con el distribuidor de Thermo.
- 13 Para que el funcionamiento sea estable, deben efectuarse procedimientos de mantenimiento correctos. Recomendamos suscribir un contrato de mantenimiento con el Departamento de servicio técnico de Thermo.
- 14 El mantenimiento del equipo debe dejarse en manos de un técnico de servicio de Thermo, de acuerdo con las indicaciones especificadas en el manual de servicio de Shandon Cytospin 4 (A78310251).
- 15 Si el equipo se ha utilizado con materiales tóxicos o contaminados con microorganismos patógenos, siga las instrucciones de limpieza indicadas en el Capítulo 5. En caso de devolver el producto a Thermo, es preciso rellenar el Certificado de devolución del producto (consulte el Apéndice C).
- 16 Utilice únicamente piezas de repuesto y accesorios autorizados con la Shandon Cytospin 4.

Bienvenida

Capítulo 2 Descripción

Descripción general En el gráfico se muestran los distintos componentes de la centrífuga Shandon Cytospin 4.



Tarjeta de programas extraíble

Las características de diseño específicas de la Shandon Cytospin 4 incluyen:

- 1 Mecanismo de apertura de la tapa que permite abrir la Shandon Cytospin 4 con una mano para cargar y descargar el rotor sellado
- 2 Nuevo panel de control para facilitar el manejo
- 3 Uso intuitivo de los programas y fácil interacción con todas las aplicaciones de la Shandon Cytospin 4

- 4 Nuevos indicadores visuales y sonoros para facilitar la detección y solución de problemas en el equipo
- Memoria totalmente programable, con posibilidad de almacenar y recuperar con facilidad un total de 23 programas
- 6 Una tarjeta de programas extraíble, en la que puede anotar los datos de cada programa
- 7 Función de ahorro de energía

Las únicas tareas de mantenimiento de rutina que debe realizar el usuario en la centrífuga Shandon Cytospin 4 se describen en el Capítulo 5, Limpieza y mantenimiento.

Recomendamos suscribir un contrato de mantenimiento con el Departamento de servicio técnico de Thermo o con un distribuidor autorizado de nuestros productos.

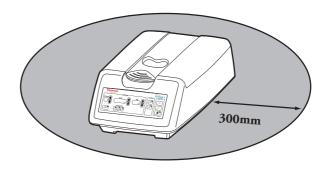
Capítulo 3 Instalación y configuración

La Shandon Cytospin 4 de Thermo es un instrumento de precisión que debe desembalarse e instalarse con cuidado.

La plataforma de trabajo tiene que ser rígida y estar nivelada, y fabricada con materiales no inflamables.



DEBE HABER AL MENOS 300 mm DE ESPACIO LIBRE ALREDEDOR DE LA SHANDON CYTOSPIN 4.





ASEGÚRESE DE QUE LOS CONDUCTOS DE VENTILACIÓN DE LOS LATERALES Y LA PARTE INFERIOR DE LA SHANDON CYTOSPIN 4 NO ESTÁN OBSTRUIDOS. ▲

La plataforma de trabajo debe ser estable y capaz de soportar un peso de 12 kg. El ambiente no debe contener polvo.

Las dimensiones máximas de la centrífuga Shandon Cytospin 4 son las siguientes:

Anchur	a	450 mm
Profundidad		620 mm
Altura	(tapa cerrada)	240 mm
	(tapa levantada)	625 mm

AVISO

Peso (con rotor sellado) 12 kg

La centrífuga Shandon Cytospin 4 pesa 12 kilogramos aproximadamente. Si es necesario, pida ayuda para trasladar o levantar el equipo sin riesgo de lesionarse. ▲

Desembalaje

Si el embalaje está dañado, compruebe el estado del equipo. En caso de haberse producido daños, póngase en contacto con el distribuidor de Thermo.

Extraiga la caja del paquete inicial (si se suministra). Retire la capa superior de material de embalaje de la Shandon Cytospin 4. Si es necesario, pida ayuda para sacar el equipo de la caja y colocarlo sobre la plataforma de trabajo.

Para levantar o mover la Shandon Cytospin 4, sujétela bien por la base de los laterales:

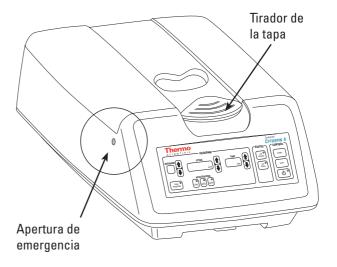


Cerciórese de que la caja contiene todas las piezas incluidas en la lista suministrada con el equipo. Informe a su distribuidor de Thermo si falta alguna. Nota Informe de inmediato a su distribuidor de Thermo si falta algún componente u observa daños en el equipo. Indique el número de serie del equipo, los números de pedido y de factura, y el número de nota de entrega (o de embalaje) y la fecha.

Nota Consulte las instrucciones de embalaje del apéndice C cuando necesite trasladar el equipo. ▲

Apertura y cierre de la tapa de la Cytospin 4

El tirador de la tapa está situado en la parte frontal del equipo, con el pestillo justo debajo.



Para abrir la tapa, presione el tirador y

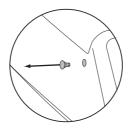
Para cerrar la tapa, bájela y asegúrese de que el pestillo de cierre ha quedado enganchado.

el pestillo a la vez.

Para inicializar el equipo, es necesario abrir y cerrar la tapa la primera vez que se enciende (si la tapa ya está abierta, sólo será preciso cerrarla). El indicador Lid Open parpadeará hasta que se realice esta operación.

Nota Si la tapa está cerrada y no hay corriente eléctrica, utilice la apertura de emergencia.

Para utilizar la apertura de emergencia, retire la pequeña tapa que hay en el lateral izquierdo del equipo:



A continuación, introduzca la varilla de apertura:



Empuje la varilla hacia dentro para desbloquear la tapa. Utilice el tirador y el pestillo para abrirla. ▲



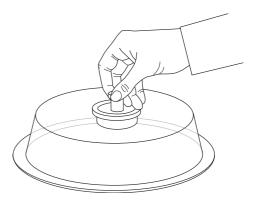
NO ABRA LA TAPA SI EL ROTOR ESTÁ CENTRIFUGANDO. NO FUERCE LA TAPA PARA ABRIRLA. ▲

Apertura y cierre del rotor sellado

Abra la tapa y retire la espuma que protege la parte superior del rotor sellado. A continuación extraiga la unidad del rotor de la Shandon Cytospin. Quite todos los elementos de embalaje.



Para abrir el rotor sellado, tire del botón que hay en el centro de la tapa que lo cubre hasta que se oiga un chasquido; después levante la tapa.



Nota La tapa del rotor sellado encaja perfectamente en la junta de goma de la base. Puede que necesite inclinar levemente la tapa para levantarla. ▲

Nota Si es necesario, sujete la tapa del rotor sellado con una mano y tire del botón central con la otra. ▲

Para cerrar el rotor, coloque la tapa sobre la junta de la base y asegúrese de que queda correctamente apoyada en la junta. Para bloquear la tapa, presione el botón central.





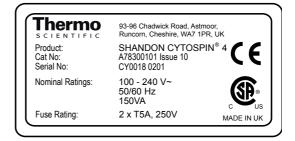
NO LEVANTE EL ROTOR ASIÉNDOLO POR EL BOTÓN DE CIERRE CENTRAL. ▲



Para no ocasionar daños en la Shandon Cytospin 4, no abra ni cierre la unidad del rotor sellado mientras esté instalada en el equipo. ▲

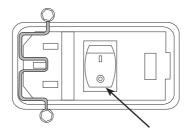
Requisitos eléctricos

Compruebe que la tensión de la red coincide con la tensión nominal que se indica en la placa de características de la parte posterior del equipo.



Nota El símbolo ~ de la placa de características indica que el equipo funciona con corriente alterna (CA). ▲

Asegúrese de que el interruptor principal **I / O** de la parte posterior del equipo está en la posición de apagado (lado **O** del interruptor hacia dentro).



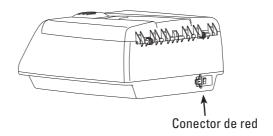
Los equipos se suministran con un cable eléctrico adecuado que dispone de un enchufe adaptado. En caso de necesitar un enchufe diferente, un técnico tendría que retirar el enchufe adaptado del cable eléctrico suministrado e instalar otro con fusible (si corresponde) y característica nominales correctos, conforme a las convenciones de cableado que se indican a continuación:

Cable para Europa	Cable para EE.UU.	Terminal
Marrón	Negro	Bajo tensión (L o L2)
Azul	Blanco	Neutro (N o L1)
Verde/amarillo	Verde	Tierra - E, masa o ᆜ

Introduzca el cable eléctrico en el conector de red del panel posterior del equipo y fije el sujetacables encima del conector. Conecte el cable eléctrico a la toma de corriente local.



SÓLO EE.UU.: CON CORRIENTE ALTERNA DE 208 V, CONECTE EL EQUIPO A UN CIRCUITO MONOFÁSICO DE TOMA CENTRAL. ▲





LA SHANDON CYTOSPIN 4 DEBE DISPONER DE UNA TOMA DE TIERRA DE PROTECCIÓN. ASEGÚRESE DE ENCHUFAR EL EQUIPO A UNA RED DEBIDAMENTE CONECTADA A TIERRA.



DEBE SER POSIBLE INTERRUMPIR EL SUMINISTRO ELÉCTRICO DESDE LA FUENTE DESCONECTANDO EL ENCHUFE DE LA TOMA DE RED. ▲



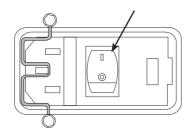
NO OLVIDE DESCONECTAR LA SHANDON CYTOSPIN 4 DE LA RED ELÉCTRICA ANTES DE LEVANTARLA O MOVERLA. ▲

Encendido y apagado

Siga estas instrucciones para encender y apagar el equipo.

Encendido

Presione el lado **l** (encendido) del interruptor **l/O** para encender el equipo.

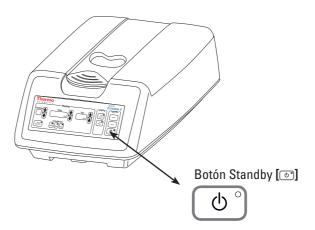


Una vez que la Shandon Cytospin 4 está encendida, debería ocurrir lo siguiente:

- 1 Todos los visores e indicadores se iluminan.
- 2 Se escucha un sonido que indica que el equipo se ha encendido.
- 3 En el visor aparece el último programa utilizado.
- 4 El indicador Lid Open parpadea.

Apagado

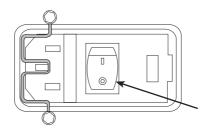
Si el equipo se utiliza con regularidad, debería apagarse utilizando el botón [49] del panel de control principal.



Nota El indicador rojo se ilumina cuando el equipo está en modo de espera. ▲

Para volver a poner en marcha el instrumento, pulse de nuevo el botón [5]. Los visores muestran los últimos ajustes utilizados.

Si el equipo se deja de usar durante largos periodos de tiempo, o si va a trasladarse, es preciso apagarlo. Presione el lado O (apagado) del interruptor principal para apagar la Shandon Cytospin 4.

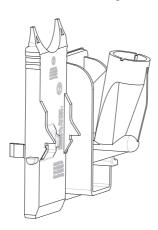


Accesorios

Hay una serie de accesorios disponibles para el uso con la centrífuga Shandon Cytospin 4.

Shandon EZ Single Cytofunnel

La Shandon EZ Single Cytofunnel es una cámara de muestras desechable para un único uso.



Existen dos versiones de la Shandon EZ Single Cytofunnel:

Filtro blanco

- Para volumen de muestra máximo de 0,5 ml
- Filtro de alta permeabilidad

Filtro marrón

- Para volumen de muestra máximo de 0,4 ml
- Filtro de baja permeabilidad, excelente para especímenes con dimensiones inferiores a las especificadas, como los de LCR

Nota Utilice portaobjetos de cristal de 1,0 mm de grosor solamente.

En el Capítulo 5, Funcionamiento, se describe la forma en que se cargan, centrifugan y extraen las muestras de la Shandon EZ Single Cytofunnel.



EL TIEMPO MÁXIMO DE PROCESAMIENTO EN LA SHANDON EZ SINGLE CYTOFUNNEL ES DE 60 MINUTOS. TRANSCURRIDO ESTE TIEMPO, EXISTE EL RIESGO DE QUE EL PORTAOBJETOS SE AGRIETE. ▲

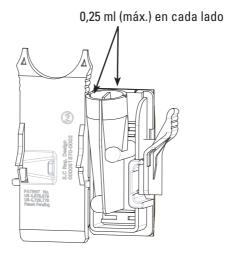


TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Shandon EZ Double Cytofunnel

La Shandon EZ Double Cytofunnel es una cámara de muestras desechable para un único uso que permite preparar 2 muestras simultáneamente.

En cada lado de la Cytofunnel doble puede cargarse un máximo de 0,25 ml de muestra (0,5 ml en total).



Nota Se recomienda utilizar la misma muestra en ambos lados de la Shandon EZ Double Cytofunnel. ▲

Los procedimientos de carga, centrifugado y extracción de muestras de la Shandon EZ Double Cytofunnel coinciden con los de la Shandon EZ Single Cytofunnel, y se describen en el Capítulo 5, funcionamiento.



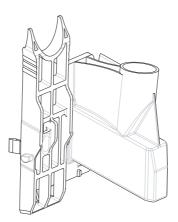
EL TIEMPO MÁXIMO DE PROCESAMIENTO EN LA SHANDON EZ DOUBLE CYTOFUNNEL ES DE 60 MINUTOS. TRANSCURRIDO ESTE TIEMPO, EXISTE EL RIESGO DE QUE EL PORTAOBJETOS SE AGRIETE. \blacktriangle



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Shandon EZ Megafunnel

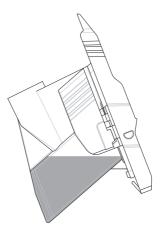
La Shandon EZ Megafunnel es una cámara de muestras desechable para un único uso diseñada para grandes volúmenes de líquidos (0,5 ml - 6 ml).



Las muestras se cargan y centrifugan del mismo modo que en la Single Shandon EZ Cytofunnel (descripción en el Capítulo 5, funcionamiento).

Cuando la Shandon Cytospin termine de centrifugar, extraiga el rotor sellado y trasládelo a un lugar seguro y práctico. Asegúrese de mantener el rotor nivelado.

Retire cada cámara Shandon EZ Megafunnel del rotor sellado. Asegúrese de mantener la EZ Megafunnel inclinada en dirección contraria al portaobjetos para evitar que el líquido sobrante entre en contacto con el papel del filtro y el portaobjetos.



Presione la palanca de apertura para soltar el mecanismo de retención que permite abrir la cámara y extraiga el portaobjetos con cuidado. Vacíe el líquido sobrante de la Megafunnel.

Deseche la EZ Megafunnel directamente en el recipiente de desechos adecuado en función de los especímenes y materiales utilizados, y según las normas del laboratorio.

Sostenga el portaobjetos con el rectángulo donde se depositan las células hacia arriba. Colóquelo sobre la plataforma de trabajo durante 5 minutos (según la aplicación, la preparación del portaobjetos puede consistir en secado al aire, fijación con aerosol o inmersión en alcohol al 95%). Tiña el portaobjetos como sea necesario.

Nota Los portaobjetos sometidos a fijación con aerosol, o las preparaciones en las que se utiliza líquido de cultivo Shandon Cytospin®, deben sumergirse en alcohol al 95% durante 10 minutos (para eliminar los restos de Carbowax®) antes de iniciar el procedimiento de tinción.

Nota Guarde las cámaras EZ Megafunnel que aún no haya utilizado en un lugar limpio y seco. ▲



LA SHANDON EZ MEGAFUNNEL FUNCIONA A UNA VELOCIDAD MÁXIMA DE 1500 RPM. SI SE APLICA UNA VELOCIDAD SUPERIOR, EXISTE UN PEQUEÑO RIESGO DE QUE EL PORTAOBJETOS SE AGRIETE. A



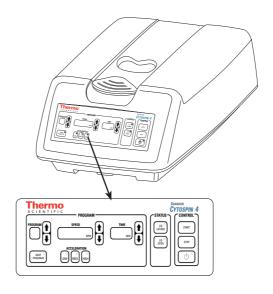
TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲ Instalación y configuración

Capítulo 4 Controles

En este capítulo se describen las funciones de todos los controles del equipo.

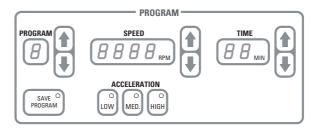
Panel de control principal

El panel de control principal está situado en la parte delantera del equipo.



Teclado de programación

Este teclado permite al usuario seleccionar o guardar un programa, así como establecer la velocidad, duración y aceleración de un proceso.



Programa

El programa seleccionado se muestra en el visor. Pueden almacenarse un total de 23 programas, que se designan mediante números y letras:

A, c, d, E, F, H, L, n, o, P, r, t, u, Y



Con la flecha hacia arriba se aumenta el número de programa en el indicador, y se reduce con la flecha hacia abajo.

Nota El equipo contiene programas cargados en fábrica, cuyas posiciones pueden cambiarse. ▲

Velocidad

El visor muestra la velocidad de procesamiento en revoluciones por minuto (rpm) (de 200 a 2000 rpm).



La flecha hacia arriba hace aumentar la velocidad. Si se pulsa una vez, la velocidad aumenta en incrementos de 10 rpm.

La flecha hacia abajo reduce la velocidad. Si se pulsa una vez, la velocidad se reduce en decrementos de 10 rpm.

Si se mantiene pulsado cualquiera de los botones, la velocidad aumenta o disminuye en intervalos de 50 rpm.

Tiempo

El visor muestra la duración del proceso en minutos (de 1 a 99 minutos).



La flecha hacia arriba incrementa la duración. Si se pulsa una vez, la duración aumenta en incrementos de 1 minuto.

La flecha hacia abajo reduce la duración. Si se pulsa una vez, la duración se reduce en decrementos de 1 minuto.

Si se mantiene pulsado cualquiera de los botones, el tiempo aumenta o disminuye en intervalos de 10 minutos.

Aceleración

Pulse [LOW], [MED.] o [HIGH] para seleccionar la velocidad de aceleración necesaria. El indicador correspondiente se ilumina para mostrar el valor elegido.



Almacenamiento de programa

El botón [SAVE PROGRAM] permite guardar los datos de duración, aceleración y velocidad en el programa seleccionado.



El indicador se ilumina si no se guarda el programa nuevo o modificado, y se apaga una vez guardado el programa.

Advertencia de fin de proceso de espécimen

Esta advertencia es una función de seguridad que protege el espécimen contenido en la Shandon Cytospin 4 cuando el programa termina.

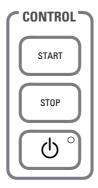
Cuando finaliza el programa, se emite un sonido para avisar al operador. Es posible programar la Shandon Cytospin 4 para que repita el aviso de 'fin de proceso' a intervalos de 1 minuto como medida de prevención en caso de que el operador se encuentre lejos del equipo cuando termine el programa.

Para que el sonido se repita a intervalos de 1 minuto, mantenga pulsada la flecha arriba de velocidad [1] cuando conecte la Shandon Cytospin 4 a la red eléctrica.

Si quiere desactivar la repetición del sonido, mantenga pulsada la flecha abajo de velocidad []] cuando conecte la Shandon Cytospin 4 a la red eléctrica.

Teclado de control

Este teclado permite al usuario iniciar o detener un proceso y poner el equipo en el modo de espera.



Inicio

Pulse [START] para iniciar un proceso utilizando los parámetros elegidos en el teclado de programación.



Parada Pulse [STOP] para interrumpir el programa que se está

ejecutando.



Espera

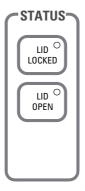
Pulse [] para que el equipo cambie al modo de espera. Al hacerlo, se ilumina el indicador de espera y se apagan todos los demás visores e indicadores.



Pulse [de nuevo para volver a poner en funcionamiento el equipo. Éste recupera los datos de configuración anteriores.

Visor de estado

Este visor permite al usuario determinar si la tapa está abierta o cerrada.



Tapa cerrada El indicador se ilumina si la tapa está bloqueada.



Nota La tapa se bloquea automáticamente durante cualquier proceso. ▲

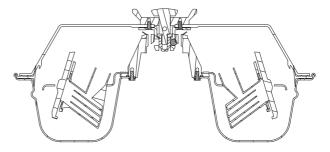
Tapa abierta El indicador se ilumina cuando la tapa está abierta.



Controles

Capítulo 5 Funcionamiento

La centrífuga Shandon Cytospin 4 utiliza la fuerza centrífuga para depositar una única capa de células en una zona determinada de los portaobjetos de cristal. De esta forma se evitan de forma eficaz las dificultades asociadas con la sedimentación resultante de los procesos de filtración o frotis directo.



La protección del operador está totalmente garantizada, ya que los especímenes potencialmente peligrosos se cierran en un rotor sellado. A esto se añade el uso de tapones independientes para las cámaras, que proporcionan al usuario un nivel adicional de protección frente a aerosoles.

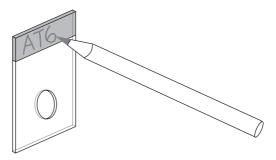


LA CARGA Y DESCARGA DEL ROTOR SELLADO DEBE REALIZARSE SIEMPRE EN UNA CÁMARA DE SEGURIDAD BIOLÓGICA. TRAS LA OPERACIÓN DE CENTRIFUGADO, TRASLADE EL ROTOR SELLADO A LA CÁMARA DE SEGURIDAD PARA ABRIRLO. ESTO ES ESPECIALMENTE IMPORTANTE SI LAS MUESTRAS OBJETO DE LA INVESTIGACIÓN CONTIENEN O PUEDEN CONTENER MICROORGANISMOS PATÓGENOS.

AVISO

La centrífuga Shandon Cytospin 4 ha sido diseñada pensando en la seguridad. No obstante, la protección puede disminuir si no se utiliza según las indicaciones de este manual. ▲

Marcar con un lápiz los extremos mate de los portaobjetos es un método habitual para identificar las muestras, y una práctica recomendada para usar el portaobjetos de la manera adecuada.



El equipo debe limpiarse, desinfectarse y esterilizarse con regularidad de la forma descrita en el Capítulo 6.

Cada laboratorio utiliza sus propios métodos de preparación de células. En la tabla siguiente (*Fuerzas 'g' de la Shandon Cytospin*) se proporciona información útil sobre las fuerzas que se generan en la Shandon Cytospin 4. Las fuerzas 'g' citadas actúan en la cara del portaobjetos en la que se depositan las células.

Nota Previa solicitud, Thermo suministra procedimientos de orientación validados para un solo usuario. Las instrucciones metodológicas están incluidas en el Apéndice B.

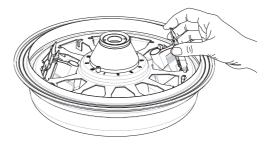
Tabla 1. Shandon Cytospin Fuerzas 'g'

Velocidad (rpm)	Fuerza (g)	Velocidad (rpm)	Fuerza (g)
200	5	1150	149
250	7	1200	163
300	10	1250	176
350	14	1300	191
400	18	1350	206
450	23	1400	221
500	28	1450	237
550	34	1500	254
600	41	1550	271
650	48	1600	289
700	55	1650	307
750	64	1700	326
800	72	1750	346
850	82	1800	366
900	91	1850	386
950	102	1900	408
1000	113	1950	429
1050	124	2000	452
1100	137		

Funcionamiento de la Shandon Cytospin 4

Para ejecutar un programa en la centrífuga Shandon Cytospin 4, basta seguir este sencillo procedimiento:

 Cargue las muestras en el rotor sellado. Instale la tapa en el rotor sellado y colóquelo en la Shandon Cytospin 4. Cierre la tapa del equipo.



A continuación puede realizar el paso 2 y seguir con el paso 6:

2 Utilice las flechas para seleccionar uno de los programas existentes.

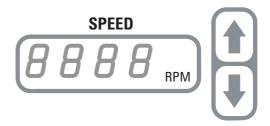


O bien, realice los pasos 3, 4, 5, 6:

3 Especifique el tiempo necesario.



4 Especifique la velocidad.



5 Elija la aceleración adecuada.



A continuación

6 Pulse [START] para iniciar el proceso.



Nota El proceso se detendrá automáticamente cuando termine el programa. Si necesita interrumpirlo antes de que acabe, pulse [STOP]. ▲

Nota Si desea guardar los parámetros introducidos, pulse [SAVE]. La información se guardará en la posición de programación que aparezca en el visor (consulte la página 45). Recuerde que, al hacerlo, se sustituirá la información de cualquier programa que se encuentre almacenado en esa posición.

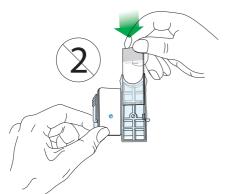
Carga de la Shandon Cytospin 4

Para cargar las cámaras Shandon EZ Cytofunnel y la centrífuga Shandon Cytospin 4, consulte las instrucciones siguientes.

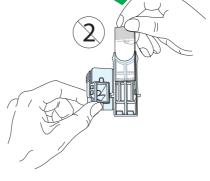
Carga de la Shandon EZ Cytofunnel desechable

1 Instale el portaobjetos de cristal como se muestra. Asegúrese de orientar el portaobjetos correctamente, con el extremo mate de la etiqueta hacia arriba y el lado mate hacia la EZ Cytofunnel.

EZ Cytofunnel doble o sencilla



EZ Megafunnel



2 Para cerrar la EZ Cytofunnel doble o sencilla, gire la parte en la que se apoya el portaobjetos hacia la cámara y presione sobre las dos mitades. Al cerrarse herméticamente, se escucha un chasquido.



Nota Ejerza presión sobre la estructura en relieve que rodea la cámara, en lugar de sobre la cámara misma. ▲

3 Utilice ambas manos para cerrar la EZ Megafunnel. Sujete bien la cámara con una mano y gire la parte de apoyo del portaobjetos hacia la cámara. Presione sobre las dos mitades. Al cerrarse herméticamente, se escucha un chasquido.



Nota Las cámaras EZ Cytofunnel tienen filtros y juntas permanentemente incorporados para simplificar la carga y descarga, y están diseñadas para usarlas una sola vez.

Para retirar el portaobjetos de la EZ Cytofunnel, presione la palanca de apertura para soltar el mecanismo de retención. Abra la EZ Cytofunnel y saque el portaobjetos con cuidado. **Para EZ Megafunnel solamente**: Elimine el líquido sobrante y fije como considere oportuno (consulte la página 24).



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Deseche la EZ Cytofunnel directamente en el recipiente de desechos adecuado en función de los especímenes y materiales utilizados, y según las normas del laboratorio. No utilice la EZ Cytofunnel más de una vez.

Carga del rotor sellado

Para cargar el rotor sellado, quite la tapa y coloque un máximo de 12 cámaras EZ Cytofunnel en las ranuras. Compruebe que las unidades EZ Cytofunnel encajan correctamente en el rotor sellado y que quedan inclinadas hacia delante.

Nota Para retirar y colocar la tapa del rotor sellado, consulte las instrucciones del Capítulo 3 (página 15). ▲



MANTENGA EL ROTOR NIVELADO CUANDO CONTENGA ESPECÍMENES. ▲



PARA EVITAR UN ERROR DE DESEQUILIBRIO (Err 03):

1 COMPRUEBE QUE LAS UNIDADES CYTOFUNNEL ESTÁN DISTRIBUIDAS DE MANERA UNIFORME EN EL ROTOR, YA QUE ESTO GARANTIZA SU ESTABILIDAD. Por ejemplo, si sólo dispone de tres unidades, colóquelas en las posiciones 1, 5 y 9, o en las posiciones 1, 4, 7 y 10 si sólo dispone de 4 unidades.





2 NO UTILICE CÁMARAS CYTOFUNNEL DE DIFERENTE TAMAÑO EN EL MISMO ROTOR SELLADO. ▲

Nota Cuando se coloca una unidad EZ Cytofunnel en la placa de soporte del rotor sellado, la cámara mantiene un ángulo de inclinación adecuado que impide que la muestra se acerque al papel del filtro.

Cuando la Shandon Cytospin 4 se pone en funcionamiento, las unidades EZ Cytofunnel giran hasta la posición vertical para permitir el centrifugado de las células del portaobjetos.

Asegúrese de que la unidad EZ Cytofunnel está en posición de reposo (inclinado) y utilice una pipeta para cargar las cámara EZ Cytofunnel estándar con una cantidad comprendida entre 0,1 ml y 0,5 ml (máximo) de células en suspensión (0,5 ml - 6 ml (máximo) para EZ Megafunnel; consulte la página 23 del Capítulo 3).



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Nota No llene las cámaras EZ Cytofunnel con cantidades superiores a las indicadas:

EZ Single Cytofunnel (filtro blanco) 0,5 ml (máximo)
EZ Single Cytofunnel (filtro marrón) 0,4 ml
EZ Double Cytofunnel 0,25 ml (en cada lado)

EZ Megafunnel 6 ml (máximo) ▲

Nota En las cámaras se pueden colocar tapones para evitar derrames.

Nota Guarde las cámaras EZ Cytofunnel que no haya

utilizado en un lugar limpio y seco. ▲ Vuelva a colocar la tapa del rotor sellado y presione el botón central para bloquearla.



ASEGÚRESE DE QUE LA TAPA DEL ROTOR SELLADO ESTÁ PERFECTAMENTE INSTALADA. ▲

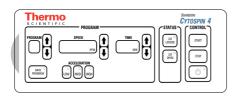
Abra la tapa de la Shandon Cytospin 4 (consulte el Capítulo 3). Levante el rotor sellado por el botón central y colóquelo con cuidado en el saliente cónico del centro de la Shandon Cytospin 4. Cierre la tapa de la Shandon Cytospin.



Utilice accesorios para centrífugas Shandon Cytospin de la marca Thermo si desea garantizar un funcionamiento correcto y seguro del equipo y/o la obtención de diagnósticos correctos. ▲

Selección de programas

Si desea seleccionar un programa, utilice las flechas para desplazarse por los distintos programas que se han almacenado.





Pueden guardarse un total de 23 programas, designados mediante los siguientes números y letras:

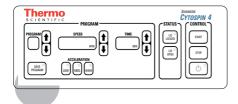
Los ajustes de cada programa aparecen en el visor. Cuando aparezca el programa deseado, pulse [START] para empezar.

Almacenamiento de programas

Nota Es posible sustituir los programas existentes. ▲

Para guardar un programa, seleccione un número de programa.

Para introducir los valores de tiempo, velocidad y aceleración necesarios, consulte las secciones siguientes.





Pulse [SAVE PROGRAM].

Nota La tarjeta extraíble permite anotar la información de un total de 9 programas. Utilice un rotulador soluble al agua (suministrado con el equipo) para actualizar la información de los programas.



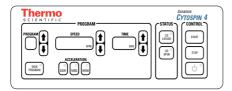
Tarjeta extraíble

Nota Si un programa se modifica de alguna forma, el indicador del botón [SAVE PROGRAM] parpadea hasta que se guarda el programa o hasta que se selecciona otro. Si el programa no se guarda, los cambios realizados se pierden.

Si el programa que muestra el visor se ha guardado, el indicador del botón [SAVE PROGRAM] permanece apagado.

Introducción del tiempo

Para introducir los valores de tiempo, modifique el contenido del visor con las flechas. El visor muestra el tiempo elegido en minutos (de 1 a 99 minutos).





La flecha hacia arriba incrementa la duración. Si se pulsa una vez, la duración aumenta en incrementos de 1 minuto.

La flecha hacia abajo reduce la duración. Si se pulsa una vez, la duración se reduce en decrementos de 1 minuto.

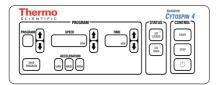
Si se mantiene pulsado cualquiera de los botones, el tiempo aumenta o disminuye en intervalos de 10 minutos.



EL TIEMPO MÁXIMO DE PROCESAMIENTO EN LA SHANDON EZ SINGLE CYTOFUNNEL ES DE 60 MINUTOS. ▲

Introducción de la velocidad

Para introducir la velocidad, modifique el contenido del visor con las flechas. El visor muestra la velocidad actual en revoluciones por minuto (de 200 a 2.000 rpm).





La flecha hacia arriba hace aumentar la velocidad. Si se pulsa una vez, la velocidad aumenta en incrementos de 10 rpm.

La flecha hacia abajo reduce la velocidad. Si se pulsa una vez, la velocidad se reduce en decrementos de 10 rpm.

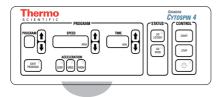
Si se mantiene pulsado cualquiera de los botones, la velocidad aumenta o disminuye en intervalos de 50 rpm.



LA SHANDON EZ MEGAFUNNEL FUNCIONA A UNA VELOCIDAD MÁXIMA DE 1500 RPM. ▲

Introducción de la aceleración

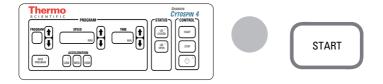
Pulse [LOW], [MED.] o [HIGH] para seleccionar la velocidad de aceleración necesaria. El indicador correspondiente se ilumina para mostrar el valor elegido.





Inicio de un proceso

Asegúrese de introducir un rotor correctamente equilibrado en la Shandon Cytospin 4 y cierre la tapa.



Seleccione o especifique el programa adecuado y pulse **[START]**.

La tapa se bloquea automáticamente y el rotor acelera hasta la velocidad establecida. Esta velocidad se mantiene durante el tiempo programado y luego el rotor frena hasta detenerse.

Una vez que el rotor ha frenado hasta un límite adecuado (menos de 20 rpm) y casi se ha detenido, la tapa se desbloquea automáticamente y puede abrirse.

Descarga de la Shandon Cytospin 4

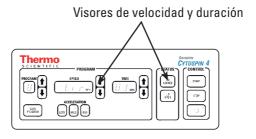
Para sacar el rotor sellado de la Shandon Cytospin 4, espere hasta que el equipo haya terminado de centrifugar. Luego abra la tapa y traslade el rotor a una cámara de seguridad biológica. El rotor sólo debe abrirse en este tipo de cámaras.



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Códigos de error, sonidos de aviso y advertencias

Si se produce un error durante el funcionamiento de la Shandon Cytospin 4, se emite un sonido de aviso y en los visores de velocidad y duración aparece el código de error correspondiente. Los códigos de error se explican en el Capítulo 7, Resolución de problemas.



La Shandon Cytospin 4 también emite sonidos o melodías durante el funcionamiento normal del equipo, por ejemplo, cuando se enciende, se pulsa una tecla o finaliza un proceso.

Funcionamiento

Capítulo 6 Limpieza y mantenimiento

La centrífuga Shandon Cytospin está diseñada para facilitar su mantenimiento. La mayoría de sus componentes fijos, como la tapa, el revestimiento del recipiente, el panel de control y la carcasa exterior, deben limpiarse con un paño suave humedecido con un detergente poco concentrado de marca.

Todos los componentes y accesorios susceptibles de contaminación también se limpian fácilmente con soluciones de detergente suave después de esterilizarse. Recomendamos aplicar los métodos de descontaminación sugeridos junto con los procedimientos habituales del laboratorio.

Para mantener el equipo en condiciones de funcionamiento correctas y seguras, es importante revisarlo regularmente al realizar los siguientes procedimientos de limpieza y mantenimiento.



SI SE DERRAMAN MATERIALES PELIGROSOS SOBRE EL EQUIPO O EN SU INTERIOR, DEBERÁ LLEVARSE A CABO LA CONSIGUIENTE DESCON-TAMINACIÓN (consulte el 'Laboratory Biosafety Manual' de la Organización Mundial de la Salud).



EN CASO DE UTILIZAR MÉTODOS DE LIMPIEZA Y DESCONTAMINACIÓN DISTINTOS DE LOS RECOMENDADOS EN ESTE MANUAL DE OPERACIONES, UN AGENTE DE THERMO DEBERÁ COMPROBAR SI SON PERJUDICIALES PARA EL EQUIPO. ▲

AVISO

Lleve siempre guantes protectores cuando limpie o descontamine la Shandon Cytospin para protegerse contra infecciones o contra los efectos de los productos químicos.

AVISO

No utilice métodos de limpieza o descontaminación que no hayan sido recomendados por Thermo. ▲

AVISO

No utilice productos químicos que reaccionen con los materiales de fabricación. En caso de duda, consulte al Departamento de servicio técnico de Thermo. ▲

AVISO

Las soluciones de fenol e hipocloritos muy concentradas deterioran el equipo y sus accesorios. ▲

AVISO

No utilice compuestos abrasivos ni componentes metálicos para limpiar el equipo o sus componentes y accesorios. ▲

Después de limpiar el equipo, asegúrese de que hay una fina capa de grasa de silicona en los laterales del eje. La grasa garantiza la perfecta colocación del rotor sellado en el eje cónico. Si es necesario, aplique una pequeña cantidad de grasa de silicona (nº de referencia de Thermo P01913) en los laterales del eje cónico.



Materiales recomendados

Si utiliza materiales de limpieza no recomendados en este manual, consulte al Departamento de servicio técnico de Thermo.



LIMPIE SIEMPRE LOS MATERIALES DERRAMADOS AL INSTANTE. SI SE DERRAMA UNA GRAN CANTIDAD DE MATERIAL, DESENCHUFE INMEDIATAMENTE EL EQUIPO Y NO LO VUELVA A ENCHUFAR NI A ENCENDER HASTA QUE ESTÉ TOTALMENTE SECO Y LO HAYA REVISADO UN TÉCNICO DE MANTENIMIENTO.

AVISO

No utilice xileno, tolueno ni ningún otro disolvente similar.

La mayoría de los desinfectantes de marca usados habitualmente en los laboratorios, como Clorox®, o los desinfectantes comercializados diluidos con tampón de bicarbonato al 0,3% con pH 7,0 a 8,0 pH deberían ser adecuados.

Deje que el desinfectante actúe sobre la superficie contaminada durante al menos una hora, si es posible, para garantizar la descontaminación.

AVISO

Cualquier vertido accidental de tintes en el panel de control táctil debe eliminarse inmediatamente pasando un paño con una pequeña cantidad de alcohol.



DENTRO DE LA UNIDAD HAY TENSIONES
POTENCIALMENTE LETALES DE MÁS DE 110 V CA.
NO RETIRE NINGUNA CUBIERTA DE ACCESO. ▲

Limpieza y mantenimiento periódicos

En la tabla siguiente se ofrecen instrucciones para limpiar cada parte de la Shandon Cytospin 4.



LOS PROCEDIMIENTOS SIGUIENTES SON LOS RECOMENDADOS POR THERMO. SI NECESITA UTILIZAR OTRO MÉTODO DE LIMPIEZA, PÓNGASE EN CONTACTO CON THERMO. ▲



Extraiga el enchufe de la toma de corriente antes de limpiar los componentes fijos del equipo.▲

Componente	Frecuencia	Comprobación	Descontaminación	Limpieza	Evitar
Panel frontal	Semanal o tras un derrame			Utilice un paño o esponja humedecido en agua templada con jabón.	Agentes abrasivos en polvo Xileno, tolueno o disolventes similares
				Utilice un trapo o esponja humedecido en agua con lejía comercial al 10%.	
Tapa, caja, base cuadrada y revestimiento de recipiente	Diaria o tras un derrame importante	Compruebe que no hay piezas agrietadas o dañadas.		Utilice un paño o esponja humedecido en agua templada con jabón.	Agentes abrasivos en polvo Xileno, tolueno o disolventes similares
				Utilice un trapo o esponja humedecido en agua con lejía comercial al 10%.	



Frecuencia

Comprobación Descontaminación

Limpieza

Evitar



ES IMPORTANTE SEGUIR LAS INSTRUCCIONES REFERENTES AL ROTOR SELLADO. LA TAPA Y LA BASE DE ÉSTE PARA QUE LA UNIDAD NO PIERDA SU EFICACIA COMO CIERRE DE BIOSEGURIDAD.

Unidad de rotor sellado



Diaria, si es preciso, e inmediatamente después de un derrame importante

Compruebe que no hav piezas agrietadas o dañadas

Esterilice el rotor sellado completo, sus componentes v accesorios en autoclave a 121°C (250°F) durante 15 minutos. Abra la tapa para que el vapor pueda penetrar bien en el interior.

Tras la esterilización en autoclave, lave el rotor sellado. iunto con sus componentes v accesorios, en aqua templada con jabón. Seque al horno a una temperatura no superior a 65°C (149°C).

Detergentes no aptos para metales no férreos (por ejemplo, Decon 90)

La alternativa consiste en sumergir la base del rotor sellado en una solución de lejía comercial al 10% y agua durante 1 hora. como mínimo.

	Γ		
	:	=	
	-	-	4
	-	-	•
6	τ		3
		Ξ	į
	С	I	3
	r	Š	j
	;	ď	;
	2	-	•
_			
•	۲	۰	
		_	
	-	-	۹
	2	-	
	2	1	J
	-	-	1
	7		Ä
	7	+	÷
	•	4	•
	6		1
	•	=	
	5	Ξ	1
	-	-	J
	2	=	
	Ç	Į	,
	:	-	1

Componente	Frecuencia	Comprobación	Descontaminación	Limpieza	Evitar
Base de rotor sellado	Diaria, si es preciso, e inmediatamente después de un derrame importante Semanal	Compruebe que la base no está abollada ni dañada. Quite la junta de la tapa, de goma de silicona, de todo el borde de la base y limpie la superficie del borde. Vuelva a colocar la junta.	Esterilice en auto- clave a 121 °C (250 °F) durante 15 minutos.	Tras la descontaminación, lave la placa de soporte en agua templada con jabón. Aclare con agua limpia y seque. La alternativa consiste en sumergir la base del rotor sellado en una solución de lejía comercial al 10% y agua durante 1 hora, como mínimo.	El uso de cepillos duros Detergentes no aptos para metales no férreos (por ejemplo, Decon 90)
	Anual	Instale una junta de repuesto.			

Componente Frecuencia Comprobación Descontaminación Limpieza	a Evitar
Placa de soporte Diaria Esterilice en autoclave a 121 °C taminació (250 °F) durante lave la place inferior de la placa, afloje y retire los dos tornillos de mariposa antes de levantar y extraer la placa. La alterna consiste sumergir del rotor en una so	escon- ión, duros laca de en agua a con clare a limpia y nativa e en r la base r sellado solución comercial agua 1 hora,

Limpieza y mantenimiento

Limpieza
<
mar
nter
₫.
ento

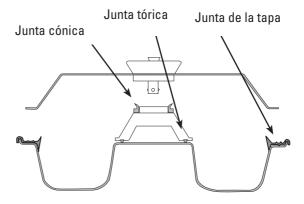
Componente	Frecuencia	Comprobación	Descontaminación	Limpieza	Evitar
Tapa de rotor sellado	Diaria, si es preciso, e inmediatamente después de un derrame importante	Compruebe que la tapa no está agrietada.	Esterilice en autoclave a 121 °C (250 °F) durante 15 minutos.	Tras la descontaminación, lave la placa de soporte en agua templada con jabón. Aclare	El uso de cepillos duros Agentes abrasivos en polvo
	Semanal	Limpie la superficie de la tapa.		con agua limpia y seque. La alternativa consiste en	Xileno, tolueno o disolventes similares
	Mensual	Lubrique el conjunto de cojinete de bolas.		sumergir la base del rotor sellado en una solución de lejía comercial al 10% y agua durante 1 hora, como mínimo.	Detergentes no aptos para metales no férreos (por ejemplo, Decon 90)

Cambio de las juntas



ES IMPORTANTE SEGUIR LAS INSTRUCCIONES DE ESTE CAPÍTULO PARA QUE LAS JUNTAS NO PIERDAN SU EFICACIA COMO CIERRE DE BIOSEGURIDAD. ▲

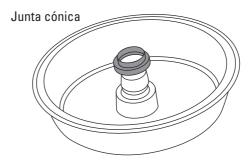
En el rotor sellado hay tres juntas flexibles: la junta cónica, la junta tórica y una junta de cierre de la tapa.



Aunque todas las juntas están diseñadas para resistir los procesos de limpieza y descontaminación que forman parte del mantenimiento periódico del rotor sellado, con el tiempo se pueden desgastar, estirar o deteriorar por acción de los productos químicos. Por consiguiente, deben cambiarse cada año. Las tres juntas se incluyen en el paquete de repuestos del rotor sellado (nº de referencia de Thermo 59910019).

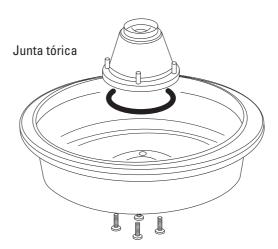
Para quitar la junta cónica, simplemente tire de ella hasta sacarla del cono.

Para montar la junta cónica en el rotor sellado, coloque la junta de repuesto en el anillo del cono central con el borde delgado hacia arriba.

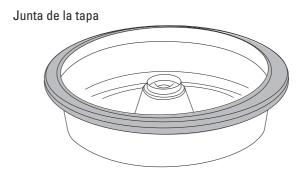


Para quitar la junta tórica, afloje con un destornillador los cuatro tornillos que mantienen el cono sujeto a la base, saque el cono y extraiga la junta de su ranura.

Para montar la junta tórica en el rotor sellado, introduzca la junta de repuesto en su ranura dentro del cono. Asegúrese de que queda bien encajada en la ranura, coloque el cono en la base y vuelva a apretar los cuatro tornillos.



Para quitar la junta de la tapa del rotor, tire de ella hasta sacarla del borde de la base.



Para montar la junta de la tapa en el rotor sellado, coloque la junta de repuesto en el borde del recipiente y presione el reborde de la junta contra el borde vertical del recipiente (consulte la sección transversal de la junta en el gráfico siguiente). Asegúrese de que se ajusta de manera uniforme por todo el borde.

Sección transversal de la junta de la tapa



Capítulo 7 Resolución de problemas

Para garantizar el buen funcionamiento a largo plazo de los equipos de precisión como el Shandon Cytospin 4, es esencial que el servicio y el mantenimiento sean correctos. Recomendamos suscribir un contrato de servicios con Thermo para garantizar la fiabilidad y el correcto rendimiento del equipo.

En la Tabla 1 se indican las acciones que es preciso realizar si el sistema Shandon Cytospin no funciona.

En la Tabla 2 se describen los códigos de error y las operaciones necesarias para suprimirlos.

Las tablas 3 a 6 se refieren a problemas de procesamiento y contienen sugerencias sobre la preparación de células por citocentrifugado.



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

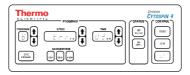
Tabla 1 - Funcionamiento del equipo

Síntoma	Causa	Solución
Los visores del panel de control no se iluminan.	No hay electricidad.	Compruebe si hay corriente.
	Se ha fundido el fusible del enchufe.	Cambie el fusible de la red.
	Se ha fundido el fusible del equipo.	Cambie el fusible del equipo.
		(Nota: El cambio de fusibles sólo puede ser efectuado por técnicos.)
	El equipo está en modo de espera (indicador rojo encendido).	Pulse [७].
Los programas no se ejecutan.	Programa interrumpido en el equipo	Pulse [START].
	Programación incorrecta	Compruebe los rangos: 200 -2000 rpm 1 - 99 minutos
	La tapa no está cerrada.	Cierre la tapa.

Códigos de error

La Shandon Cytospin 4 muestra códigos de error en los visores y emite sonidos de aviso cuando detecta una situación que impide un funcionamiento normal y seguro.

Los visores de velocidad y duración presentan el código Err 0X, donde X es el número de error explicado en la Tabla 2. Por ejemplo, el Error 3 sería:



Para eliminar un error, pulse [STOP] con el fin de desactivar el aviso. Cuando el rotor sellado deje de centrifugar, pulse [STOP] de nuevo para eliminar el error. Después de corregir un error, es preciso abrir y volver a cerrar la tapa del equipo.

Si el visor muestra un código de error que no figura en la Tabla 2, apague y encienda otra vez el equipo para borrarlo.

Si algún error no desaparece, póngase en contacto con el Departamento de servicio técnico de Thermo.

Tabla 2 - Códigos de error

Código de error	Causa	Solución
Err 01	Error de tapa: el conmutador de la tapa no ha funcionado correctamente.	 Pulse [STOP] y, a continuación, abra y cierre la tapa.
Err 02	Error de velocidad: la Shandon Cytospin 4 no puede mantener la tolerancia normal de ± 20 rpm, o no ha podido alcanzar la velocidad programada en 1 minuto.	 Pulse [STOP] y, a continuación, abra y cierre la tapa. Compruebe que el rotor está bien instalado y gira sin problemas. Póngase en contacto con el servicio técnico de Thermo Shandon si el problema persiste.
Err 03	Error de desequilibrio: la Shandon Cytospin 4 ha detectado un error de falta de equilibrio.	 Apague la Shandon Cytospin y vuelva a encenderla. Luego abra y cierre la tapa. Revise la distribución de los portamuestras (página 42). Compruebe si el rotor está dañado. Compruebe que el rotor gira sin problemas.
Err 04	La batería se ha descargado o la memoria del sistema se ha dañado y ha provocado la restauración del equipo.	 Pulse [STOP] y, a continuación, abra y cierre la tapa. Deje el equipo encendido durante 24 horas. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Thermo.
Err 05	El bloqueo de la tapa se ha desactivado manualmente durante el proceso o el solenoide de la tapa no ha funcionado bien.	Pulse [STOP] y, a continuación, abra y cierre la tapa.
Err 06	La tapa no se ha abierto y cerrado al encender el equipo o tras un error.	 Pulse [STOP] y, a continuación, abra y cierre la tapa.

Tabla 3 - Resultados incorrectos de citocentrifugado - Calidad

Problema	Causa	Solución
	Antes del citocentrifuga	do
Células mal conservadas	Mal conservadas en vivo	Solicite otro espécimen.
	Largos retrasos entre el cul- tivo y la preparación	Reduzca los retrasos (p.ej., menos de 4 horas. Refrigere si el retraso es mayor).
	Células suspendidas en sus- tancia salina normal	Use una solución electrolítica equilibrada.
Células de diámetro pequeño (ópticamente densas)	Células en una alta propor- ción de alcohol fuerte	Recoja especímenes fres- cos no fijados o mezcle con un volumen equivalente de etanol al 50%.
	El alcohol añadido a una cámara de muestras emp- ieza a subir por la suspen- sión de células y causa la contracción de las células al mezclarse.	Añada menos alcohol y hágalo con cuidado.
Glóbulos rojos hemol- izados; hay imágenes fantasma.	El alcohol se ha mezclado con la suspensión celular.	Añada alcohol con cuidado a la cámara de muestras.
	Durante el citocentrifuga	ado
Células secadas al aire	Medio de suspensión celular completamente absorbido por el filtro	Llene la cámara de muestras cilíndrica antes del citocentrifugado, utilice líquido de cultivo Shandon Cytospiny reduzca el tiempo y/ola velocidad de citocentrifugado.
Células secadas al aire en el contorno del área de cultivo	Medio de suspensión celular casi completamente absor- bido por el filtro	Aumente el volumen del espécimen hasta 0,5 ml, utilice líquido de cultivo Shandon Cytospin y reduzca el tiempo y/o la velocidad de citocentrifugado.

Tabla 3 - Resultados incorrectos de citocentrifugado - Calidad (Continuación)

Problema	Causa	Solución
	Después del citocentrifug	jado
Células secadas al aire	Se ha permitido la evapo- ración de la película de líquido que había sobre las células durante el breve intervalo entre la descarga y la inmersión en alcohol.	Actúe con rapidez para evitar la evaporación de la capa que protege las células.
Células secadas al aire en el contorno del área de cultivo	La película de líquido es más delgada en los bordes y se evapora antes que en la zona central gruesa.	Sumerja las células en alcohol antes de que el aire seque el contorno del área de análisis.
Células secadas al aire rotas y sin color que recuerdan a las 'células en cesta' de hematología	Células frágiles secadas al aire y exageradas por la fuerza centrífuga	Solicite otro espécimen. No deje que se seque al aire.

Tabla 4 - Resultados incorrectos de citocentrifugado - Cantidad (Número de células)

Problema	Causa	Solución
	Antes del citocentrifuga	do
No hay células	Puerto de salida bloqueado por filtro (TPX solamente)	Solicite otro espécimen.
Células anormales en espécimen, pero no en las prepara- ciones citocentrifu- gadas	Las células anormales, que suelen tener mayor tamaño y peso que las normales, se sedimentan en el fondo del concentrado. Se pueden pasar por alto si no se resuspenden por completo después de un centrifugado convencional.	Introduzca el tubo de cen- trífuga con concentrado celular y varios ml de solu- ción electrolítica equilibra- da en el agitador vorticial y resuspenda completamente las células.
Cantidad insuficiente de células	Cantidad insuficiente de célu- las en espécimen bruto	Aumente la proporción mediante centrifugado convencional. Resuspenda las células en una solución electrolítica equilibrada de 1-2 ml. Cuando resulte posible, combine el contenido de varios tubos de centrífuga que tengan el mismo espécimen. Examine una gota del concentrado celular resuspendido mediante el microscopio. Base el tamaño de la muestra en el recuento celular. Solicite otro espécimen. Sugiera formas de incrementar la cosecha de células.
	Cantidad insuficiente de célu- las en la cámara de muestras	Base el tamaño de la muestra en el recuento celular de una gota de concentrado de células resuspendidas.
	Especímenes de escasa densi- dad pueden haber llenado las partes cónicas y cilíndricas de la cámara de muestras	Aumente la proporción del espécimen de la forma indicada anteriormente.

Tabla 4 - Resultados incorrectos de citocentrifugado - Cantidad (Continuación)

Problema	Causa	Solución		
	El cono parcialmente lleno ha elevado el espécimen en el cilindro hasta el nivel del filtro, donde las células pueden ser absorbidas.	No permita que el borde distal del espécimen toque el filtro antes del citocentrifu- gado.		
	Células desalojadas por ácido hialurónico precipitado en líquido sinovial	Disuelva el precipitado de ácido hialurónico con una pizca de hialuronidasa.		
	Células desalojadas por sales de fosfato precipitadas en orina	Mezcle varias gotas de ácido acético glacial para rebajar el pH y redisolver las sales de fosfato precipitadas dependi- entes de pH alcalino.		
	Células desalojadas por eritrocitos	Use saponina para hemolizar los eritrocitos.		
	Portaobjetos entre el puerto de salida y el filtro (TPX solamente)	Introduzca en el orden cor- recto (lado del filtro de la cámara de muestras).		
Demasiadas células	Suspensión celular de alta den- sidad añadida a la cámara de muestras	Examine una gota del concentrado celular resuspendido mediante el microscopio. Diluya 10 veces si es necesario, y base el tamaño de la muestra en el recuento celular o dedúzcalo del resultado de la cámara cuentaglóbulos.		
		No confíe en las valoracio- nes visuales del estado del espécimen.		
Durante el citocentrifugado				
Cantidad insuficiente de células	Puerto de salida bloqueado por filtro desalineado (TPX solamente)	Compruebe la alineación desde la parte posterior de la pinza del portaobjetos. Encaje el filtro.		
	Pérdida de células en el espacio entre el puerto de salida y el filtro	Aunque es poco probable que ocurra, compruebe la alineación de la unidad instalada.		

Tabla 4 - Resultados incorrectos de citocentrifugado - Cantidad (Continuación)

Problema	Causa	Solución	
Después del citocentrifugado			
Cantidad insuficiente de células	Absorción incompleta del medio de suspensión debido a la obstrucción del filtro por residuos en especímenes no centrifugados previamente y/o al colapso de los poros a causa de un exceso de presión del resorte o de fuerza centrífuga	Centrifugue el espécimen a 3000 rpm durante 10 minutos para que las células se sedimenten y deje los residuos en suspensión para desecharlos junto con el líquido sobrante. No utilice secante húmedo antes del citocentrifugado. Citocentrifugue el espécimen a 1000 rpm durante 6-10 minutos.	
	La no absorción del medio de suspensión puede provocar el lavado de las células.	Descargue la cámara de muestras horizontal con el lado de las células hacia arriba. Deje que el secante absorba el líquido sobrante. Retire la cámara y el secante del portaobjetos. Mantenga el portaobjetos en horizontal hasta que quede una capa delgada y sumerja en fijador.	

Tabla 5 - Pauta extraña de distribución de la población de células

Problema	Causa	Solución			
Antes del citocentrifugado					
Distribución en forma de media luna	El cilindro no está completa- mente lleno.	Llene el cilindro en su totali- dad.			
	Las células se sedimentan en el cilindro si se retrasa mucho el citocentrifugado.	Cargue las cámaras de muestras con rapidez e inicie el citocentrifugado de inmediato.			
Zona de presentación desplazada del extre- mo de la etiqueta	El portaobjetos no está bien apoyado en la base de la Cytofunnel.	Fije el portaobjetos en la base de la Cytofunnel.			
Zona de presentación desplazada hacia el extremo de la etiqueta	El portaobjetos está colo- cado en la Cytofunnel con el extremo de la etiqueta hacia abajo.	Introduzca el portaobjetos con la etiqueta hacia arriba.			
Células en el lado infe- rior del portaobjetos	Los portaobjetos se han cargado al revés.	Coloque el portaobjetos con la etiqueta en dirección al puerto de salida.			
	Después del citocentrifugado				
La población de células fluye hacia el extremo de la etiqueta o hacia el extremo opuesto.	Las células en capas delga- das están demasiado húme- das y son empujadas hacia la parte superior del portao- bjetos cuando se sumergen en alcohol, o resbalan hacia abajo tras la inmersión.	Deje que el medio de sus- pensión se evapore casi en su totalidad.			
Estrato circular de células, centro sin células, distribución en 'ojo de buey'	Con células en capas muy gruesas, los bordes casi se secan pero el centro permanece muy húmedo y provoca el desteñido de las células.	Añada menos suspensión celular.			

Tabla 6 - Resumen

Para producir de forma predecible preparaciones que exhiban en un círculo de 28 mm² una muestra representativa de células planas no apiñadas y distribuidas al azar en una capa, que además estén bien conservadas y presentadas, se recomienda utilizar los materiales y métodos siguientes:

Antes del citocentrifugado

OPERACIONES NECESARIAS OPERACIONES INCORRECTAS Usar una suspensión de células frescas no Usar suspensiones celulares en alcohol. fiiadas. Saponificar las suspensiones celulares con Usar suspensiones celulares con sangre. sangre. Igualar diferencias en las suspensiones. Citocentrifugar suspensiones celulares no procesadas. Controlar el número de células. Hacer una estimación del número de células. Usar portaobjetos de microscopio limpios. Usar portaobjetos albuminados o mates. Usar una solución electrolítica equilibrada. Usar una solución salina normal. Mantener la suspensión celular apartada Dejar que la suspensión celular toque el filtro. del filtro.

Durante el citocentrifugado

OPERACIONES NECESARIAS

Seleccionar valores de velocidad, duración y aceleración adecuados para el tipo de espécimen. Por ejemplo, utilizar valores de velocidad y aceleración bajos para células frágiles.

Llenar las cámaras de muestras con

volúmenes similares.

OPERACIONES INCORRECTAS

Usar volúmenes significativamente distintos.

Centrifugar a demasiada velocidad.

Centrifugar durante mucho o poco tiempo.

Durante el citocentrifugado

OPERACIONES NECESARIA	12
-----------------------	----

OPERACIONES INCORRECTAS

Mantener las células ligeramente húmedas.

Sumergir inmediatamente la preparación citológica en 95% de etanol, para preparaciones de etanol.

Dejar que las células se sequen al aire, a menos que sea intencionado.

Dejar que quede demasiado líquido en las células.

Dejar que la capa celular se seque al aire antes de la tinción, cuando se utilice el líquido de cultivo Shandon Cytospin. Sumergir en 95% de etanol hasta que las capas de células preparadas con líquido de cultivo Shandon Cytospin se hayan secado lo suficiente, a menos que se especifique lo contrario.

Resolución de problemas

Capítulo 8 Especificaciones, accesorios y repuestos

Especificaciones

Físicas

Anchura 405 mm (máx.)

Profundidad 620 mm

Altura 240 mm (tapa cerrada)

625 mm (tapa abierta)

Peso 12 kg

Eléctricas

Tensiones de alimentación 100 - 240 V CA (~); 5 A 50/60 Hz; 150 V A

Nota Las fluctuaciones máximas de la tensión de alimentación

no deben superar ±10% de la tensión nominal.

Fusibles Fusible de enchufe de red 5 A, 250 V (si corresponde)

Fusibles de red (x 2) T5A 250 V

(nº de referencia de Thermo para caja de fusibles de repuesto

A78310021)

Nota El cambio de fusibles sólo debe ser realizado por técnicos.

Convención del interruptor I Corriente conectada

O Corriente desconectada

Nivel de potencia <53 dB (no debería presentar ningún peligro para el usuario) **acústica**

Datos de programación Tiempo 1 - 99 minutos

Velocidad 200 - 2000 rpm (en incrementos de 10 rpm)

Aceleración Alta, Media, Baja

Entorno

General

Sólo para uso en interiores

Temperatura de

funcionamiento

 $+2^{\circ}C$ a $+40^{\circ}C$

Temperatura de transporte/ -25°C a +55°C (+70°C para exposiciones breves)

almacenamiento

Humedad 80% máx. para temperaturas < 31°C 31°C a 40°C

50% máx. para temperaturas de

(entorno sin condensación)

Altitud 2.000 m máximo

Nivel de contaminación 2 Categoría de sobretensión H

Números de referencia

Shandon Cytospin 4

A78300001 (con paquete inicial)

A78300002 (sin paquete inicial)

Nota *El paquete inicial contiene:*

Cámaras Shandon EZ Double Cytofunnel con portaobjetos

citológicos (Cytoslide) dobles

Cámaras Shandon EZ Single Cytofunnel (filtro blanco) con

portaobjetos citológicos (Cytoslide) sencillos

Cámaras Shandon EZ Megafunnel con portaobjetos A

Nota Los dos modelos de centrífuga Shandon Cytospin 4 disponen de un rotor sellado.

Accesorios y repuestos

Accesorios de la centrífuga	Cantidad	Referencia
Rotor sellado (sin Cytofunnel)	Uno	59910018

Repuestos para la centrífuga	Cantidad	Referencia
Juntas de rotor sellado	Paquete de 3	59910019
Nota: Cada rotor precisa 3 juntas distintas; este paquete incluye 1 junta de cada tipo. ▲		
Placa de soporte	Una	59920047



Utilice accesorios para centrífugas Shandon Cytospin de la marca Thermo si desea garantizar un funcionamiento correcto y seguro del equipo y/o la obtención de diagnósticos correctos. ▲

Otros accesorios	Cantidad	Referencia
Cámaras de muestras:		
Shandon EZ Single y Double Cytofunnel: (desechab paquetes incluyen tapones)	le; filtros integrac	dos; los
Sencilla, con filtro blanco	Paquete de 50	A78710003
Sencilla, filtro marrón	Paquete de 50	A78710004
Doble, con filtro blanco	Paquete de 50	A78710005
Shandon EZ Megafunnel - 6 ml (incluye tapones y portaobjetos)	Paquete de 25	A78710001

	Otros accesorios			Referencia
Cytoslide:				
76 portaobjetos de c mate en un extremo			ada para espécim	nen y franja
Un círculo:	recubierto;	círculo trasero	Paquete de 100	5991056
Un círculo:	sin recubrir;	círculo trasero	Paquete de 100	5991051
Un círculo:	sin recubrir;	círculo frontal	Paquete de 100	5991059
Dos círculos:	recubierto		Paquete de 100	5991055
Dos círculos:	sin recubrir		Paquete de 100	5991054
Portaobjetos de Megafunnel:	recubierto	rectángulo	Paquete de 25	5991026
Dos círculos:	máscara azul		Paquete de 100	B5991050
Un círculo:	máscara neg	ra	Paquete de 100	5991057
Preparación:				
Líquido de cultivo Sh	andon Cytosp	in:		
Contenedores de 10 litros			Paquete de 2	9990310
Contenedor de 4 litros con bomba			Uno	6768001
Recipientes de 500 ml		Paquete de 2	6768315	
Frascos de 120 ml (llenos hasta 60 ml)			Paquete de 125	9990323
Líquido de cultivo rojo CytoRich:				
Contenedor de 4 litros			Uno	B9990800
Recipientes de 500 ml			Paquete de 2	B9990801
Frascos de 120 ml (llenos hasta 60 ml)			Paquete de 125	B9990803
Viales de 20 ml (llenos hasta 10 ml)		Paquete de 180	B9990802	
Líquido de transporte Mucolexx:				
Bolsa de 4 litros en caja			Una	9990371
Recipientes de 500 ml		Paquete de 4	9990370	
Frascos de 120 ml (llenos hasta 60 ml)		Paquete de 50	9990375	
Fijador en aerosol Sh	nandon Cell-Fix	xx:		
Bote de 50 ml		Paquete de 6	6768326	

Repuestos generales	Cantidad	Referencia
Manual de servicio	Uno	A78310251
Grasa de silicona (para eje cónico)	Tubo de 60 gr	P01913
Tarjeta de flujo de trabajo estándar	Una	A783-1001
Rotulador soluble al agua	Uno	A78330031

Para obtener más información, consulte el último catálogo.

Especificaciones, accesorios y repuestos

Capítulo 9 Declaración de garantía

Estamos orgullosos de nuestra calidad, fiabilidad y servicio posventa. Nos esforzamos constantemente por mejorar el servicio a nuestros clientes.

No dude en solicitar a su distribuidor o representante de Thermo información sobre los contratos de mantenimiento que le ayudarán a conservar su adquisición en condiciones óptimas durante muchos años.

Las disposiciones de la garantía varían necesariamente según la legislación de cada país o región; encontrará los detalles en la documentación suministrada o a través de su distribuidor o representante.

Tenga en cuenta que la garantía puede quedar anulada si:

- Se realiza alguna modificación en el equipo.
- Los accesorios y reactivos utilizados no son los aprobados por Thermo.
- El equipo no se utiliza o mantiene conforme a las instrucciones indicadas en este Manual de operaciones.

Declaración de conformidad

La presente Declaración de conformidad es válida únicamente en el caso de que el equipo se utilice de acuerdo con este Manual de operaciones.

Nombre del fabricante: Thermo Fisher Scientific

Dirección del Chadwick Road, Astmoor, Runcorn, **fabricante**: Cheshire, WA7 1PR, Reino Unido

Descripción del

producto: Citocentrífuga

Denominación del Shandon Cytospin. 4

producto:

Números de referencia: A78300001, A78300002 cuando se utiliza con los accesorios siguientes:

Rotor sellado: 59910018

Shandon EZ Single Cytofunnel[®]: A78710003, A78710004

Shandon EZ Double Cytofunnel*: 78710005 Shandon EZ Megafunnel*: A78710001

Cytoslide*: B5991050, 5991051, 5991054, 5991055, 5991056, 5991057, 5991059

Año de fabricación (CE): 2002

Este producto cumple los requisitos principales de las siguientes directivas:

Directiva sobre diagnósticos in vitro 98/79/CE

Directiva sobre baja tensión 73/23/CEE (modificación 93/68/CEE)

Este producto cumple las siguientes normas internacionales:

CEM: EN61326

EN61000-3-2 EN61000-3-3

Seguridad: IEC 61010-2-020

IEC 61010-2-101

CAN / CSA - C22.2 Nº 1010.1-92

Norma UL Nº 3101.1

Editado por: K. Waldron

Director de Control de Calidad

Thermo Fisher Scientific

Monin Wallron

Diagnósticos clínicos, Patología anatómica

Fecha: 1 de enero de 2005

Los accesorios opcionales que se considera que están sujetos a la directiva sobre diagnósticos in vitro (IVDD) aparecen identificados de forma específica en esta Declaración de conformidad. Los demás accesorios de serie que se suministran posteriormente se consideran piezas de repuesto. Los elementos útiles ofrecidos como accesorio no están sujetos a la directiva IVDD.

Apéndice A Gráfico de flujo de trabajo estándar

EXAMEN DEL ESPÉCIMEN

Página 89

- Origen del espécimen: localización anatómica exacta
- Volumen de espécimen
- Aspecto físico del espécimen: color, viscosidad, si es homogéneo o contiene fragmentos de tejido o sangre

DETERMINACIÓN DE RECUENTO CELULAR

Página 90

La concentración elegida proporcionará espacio suficiente para que las células formen una única capa con un mínimo de superposición, pero sin demasiada separación entre las células.

Las células con diámetro medio de 10-12 micras permiten obtener preparaciones Cytospin excelentes con densidad de 1x10⁶ células por ml. Las células de mayor tamaño requieren concentraciones más bajas, mientras que con células de menor tamaño, órganos celulares o bacterias se necesitan concentraciones más altas.

CONCENTRACIÓN O DILUCIÓN DEL ESPÉCIMEN

Página 94 (concentración) Página 95 (dilución)

CARGA DE LAS CÁMARAS DE MUESTRAS DE LA SHANDON CYTOSPIN



Páginas 40 a 44 y página 95

Coloque las cámaras EZ Cytofunnel en el rotor sellado. Asegúrese de distribuirlas de manera uniforme para que la Shandon Cytospin 4 no se desequilibre. Cargue las cámaras EZ Cytofunnel después de insertarlas en el rotor sellado. No coloque más de 0,5 ml de la muestra en la cámara EZ Cytofunnel si el filtro es blanco (0,4 ml en el caso de las cámaras EZ Cytofunnel con filtro marrón, o 6 ml máximo en cámaras EZ Megafunnel). Verifique que la muestra se deposita directamente en el fondo de la cámara, y no permita que resbale hacia abajo por los laterales de la cámara.

cont../

SELECCIÓN DEL TIEMPO, LA VELOCIDAD Y LA ACELERACIÓN DEL PROGRAMA SHANDON CYTOSPIN

Páginas 44 a 47 y página 96

Una célula promedio necesita una velocidad aproximada de 1000 rpm con aceleración media. Las células de mayor tamaño o frágiles se centrifugan a menos velocidad (por ej., 500 - 800 rpm) con baja aceleración, mientras que las células de menor tamaño o bacterias necesitan una velocidad mayor (máximo de 2000 rpm) con alta aceleración. La velocidad máxima que se puede aplicar con las cámaras EZ Megafunnel es de 1500 rpm.

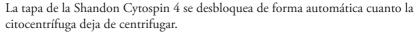
FUNCIONAMIENTO DE LA SHANDON CYTOSPIN

Página 48

Cuando programe la Shandon Cytospin 4 y cargue el rotor sellado, pulse [START] para iniciar el proceso.

DESCARGA DE LAS CÁMARAS DE MUESTRAS CYTOSPIN





Extraiga el rotor sellado de la Shandon Cytospin tan pronto como ésta deje de centrifugar y ábralo en una cámara de seguridad biológica. Abra la tapa del rotor y retire las unidades EZ Cytofunnel.

FIJACIÓN

Página 98

Fije las muestras tan pronto como sea posible si quiere evitar la autolisis.

TINCIÓN

El espécimen está listo para la tinción. Puede examinarse de acuerdo con las prácticas de laboratorio y mediante el microscopio.

MICROSCOPÍA Y DIAGNÓSTICO



TENGA CUIDADO CON LAS MUESTRAS UTILIZADAS. PUEDEN REPRESENTAR RIESGO BIOLÓGICO. ▲

Appendix B Methodology Guidelines

General Theory

Introduction

The Shandon Cytospin is a special purpose instrument designed to deposit cells on to glass slides. The instrument produces monolayer cell deposition in a defined area of the slide, using centrifugal force. For most cytological specimens the Shandon Cytospin offers significant advantages in specimen retention, preparation, and standardisation, and ease of specimen evaluation.

Cytological specimens may also be deposited on to slides by techniques such as direct smears or by filter techniques. While useful with some specimens, both direct smears and filter techniques have significant disadvantages when compared with Shandon Cytospin preparations.

Direct smears consistently produce preparations of varying thickness from end to end of the smear. In addition, severe mechanical damage may result to many cells within the preparation. There is also a likelihood of selective cell distribution within the smear. Cells of different sizes will be deposited in different areas of the smear.

Filter preparations, while excellent for cell retention, are technically demanding and time consuming. In addition, filter preparations rarely yield slides that can be evaluated easily. The cells are seldom in the same plane as the focus within the microscope, and it is extremely difficult to obtain well stained cells without also staining the filter. For those filter techniques that dissolve the filter, there is a significant risk of cell loss, in addition to the difficulty and hazards of using a volatile and dangerous solvent.

Shandon Cytospin preparations effectively circumvent these difficulties, and consistently produce uniform preparations

of cells that are easily stained and evaluated. In addition, the construction of the Shandon Cytospin ensures maximum containment of potentially hazardous specimens, thereby reducing the risk to laboratory personnel.

Specimens from body fluids and all body sites can be used for Shandon Cytospin preparations. The primary requirements are that the specimen be a cell suspension, preferably of single cells, and that the cells are fresh and intact enough to yield diagnostic information. With proper application of the general principles of Shandon Cytospin operation, consistent preparations of well-preserved cell monolayers should result.

General Laboratory Considerations

The Shandon Cytospin is designed to provide maximum protection to the operator by completely containing potentially hazardous specimens. However, Shandon Cytospin cannot protect the operator during the various steps required to process a specimen prior to using the Shandon Cytospin. Good laboratory practice requires the use of a biological safety cabinet for all manipulators of cytological specimens. This includes both the loading and unloading steps for the Shandon Cytospin. Once the specimen is loaded into the Shandon Cytospin sealed head, and the lid is sealed in place, the sealed head may then be taken outside the biological safety cabinet for spinning in the Shandon Cytospin. After the Shandon Cytospin has stopped, the sealed head should be returned to the biological safety cabinet prior to being opened.

Due to the potentially infectious nature of the specimens that may be processed in the Shandon Cytospin, the laboratory must establish procedures to ensure that the instrument is routinely disinfected. Suggested methods for cleaning and disinfecting of the Shandon Cytospin and accessories will be found in the Cleaning and Maintenance section of the Operator Guide.

As with all clinical specimens, it is extremely important to maintain specimen identification. For the Shandon Cytospin, this means that the slides on to which a specimen will be deposited must be adequately labelled with the appropriate specimen identification. The method of labelling must take into account the subsequent procedures that will be used. In general, it would be expected that the label might be subjected to fixation steps and staining procedures. Obviously, a paper label would be inappropriate. Pencil identification on frosted-end glass slides is the most common approach to specimen identification.

The laboratory must also ensure that adequate labelling is maintained for all containers or devices to which the specimen is transferred. In use of the Shandon Cytospin, this may include one or more centrifugation steps, conducted in a standard laboratory centrifuge. Each new container to which the specimen is transferred must be appropriately labelled. In addition, the laboratory must ensure containment of the specimen to eliminate potential hazards to the laboratory personnel. Since most centrifuges do not provide aerosol containment during operation, any intermediate centrifugation steps should be conducted in a biological safety cabinet. At the conclusion of specimen preparation, all intermediate containers, pipettes, etc., should be disposed of in an appropriate biohazard container.

Specimen Preparation

Initial Examination

Cytological examination always begins with a macroscopic examination of the specimen at the time it is submitted to the laboratory. This is a crucial examination, as it provides information that will be used to select processing protocol. The macroscopic examination is most useful in the hands of an experienced technologist. Prior experience with a particular specimen is invaluable in recognising whether a given sample is normal or highly suspect, and whether the specimen will be adequate for cytological examination. However, it is usually impossible to determine if a given sample contains abnormal cells from the macroscopic examination only. A specimen which should normally be clear should not be assumed to be abnormal simply because it is bloody on arrival in the laboratory. Any number of circumstances may produce a different appearance in a specimen during the collection process.

The macroscopic examination cannot be used as a definitive test of the specimen. It does serve to support the eventual diagnostic assessment, but more importantly, it provides the information that will allow the technologist to choose a specimen preparation protocol. A complete macroscopic examination may include:

- 1 Record of specimen origin precise anatomical site.
- 2 Volume of specimen.
- 3 Gross characteristics.

Gross characteristics describe the physical appearance of the specimen. Important parameters are the colour of the specimen, its viscosity, and whether the specimen is homogeneous or contains solid tissue fragments.

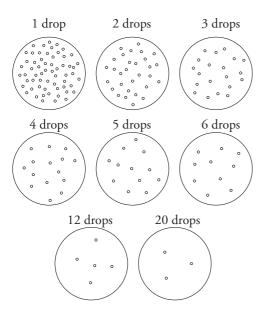
The gross examination will also determine if the specimen is fresh or if it has been fixed prior to delivery to the laboratory. In general, it is preferable if all cytological samples are submitted to the laboratory in the fresh state. However, in many cases, due to transport distances or time constraints, the specimen will be fixed prior to submission. This must be noted during the gross examination, as fixation may affect several of the parameters recorded during the gross examination. Prior fixation may also constrain the subsequent processing of the specimen. Fixation and its effects will be discussed in a subsequent section of this paper.

Determination of Cell Number

Successful operation of the Shandon Cytospin requires knowledge of the number of cells present in the sample. While the experienced technologist will achieve reasonable results by estimating the cell number, less than optimal preparations sometimes result from such estimates. It is highly recommended that all specimens be examined specifically to determine cell numbers. Visual appearance alone is often confusing, since specimen turbidity may be the result of cell debris, suspended lipids, or other noncellular materials. In such cases, a direct determination of cell number is necessary to ensure proper Shandon Cytospin preparations.

Samples which contain 'average' cells, that is cells with an approximate diameter of ten to twelve microns, produce excellent Shandon Cytospin preparations at cell densities of one million cells (1x10⁶) per ml. Specimens containing large cells require lower cell concentrations, and specimens with tiny cells, cell organelles, or bacteria, may require higher concentrations. The absolute concentration required will be somewhat dependent on the processing methodology employed. As a general rule, the concentration chosen should be such that the cells within the sample have adequate space to spread into a monolayer on the slide surface, with minimal overlap, or piling up of cells. Ideally, the concentration should be high enough that there is not too much space between cells. Having sufficient concentration of cells speeds up evaluation of the preparation, since little time will be lost in searching for cells to evaluate.

A quick method for approximating the number of cells present in a sample is to place a single drop of the sample on a slide and cover with a 24×50 mm coverslip. By lowering the condenser of the microscope, or by closing the microscope condenser diaphragm, the unstained cells can be seen (although detail will not be seen). Using the 10×10^{-5} objective, scan the field and pick an area that appears about average for the entire slide. The cells will mostly likely not be evenly spread, which is why it is necessary to select an average area. Now switch to the 40×10^{-5} objective. You may also need to open the diaphragm or raise the condenser slightly.



The large circles represent cells in one drop of cell suspension, either of unprocessed cell specimen or preferably of centrifuged cell concentrate, that have been spread under a 24 x 50 mm cover glass and viewed under a 40x objective. Although drawn smaller than they appear microscopically, the cell and field diameters are proportional to one another at a 50:1 ratio. Simply match the microscopic field with its closest counterpart here and use the number of drops so indicated.

Cells / 40x field as a guideline to the number of drops of cell suspension / Shandon Cytospin sample chamber

Count the cells seen in the field. It is not necessary to count every cell - an approximation will do. Refer to the illustration Cells / 40x field as a guideline to the number of drops of cell suspension / Shandon Cytospin sample chamber. This count can be used to estimate the number of drops of the cell suspension required for a Shandon Cytospin preparation. To determine the number of cells being used, multiply the number of cells counted by 38. Divide the number of cells counted into 60. The quotient equals the number of drops that should be added to the Shandon Cytospin sample chamber, though the total volume should not exceed the 0.5 ml capacity of the chamber. This gives the total number of cells applied to the Shandon Cytospin funnel for each drop of suspension used. While this technique for estimation of cell number is an approximation only, it does provide an excellent control of Shandon Cytospin preparations.

A second method of cell number determination is by manual counting of cells in a haemocytometer. This is a device that defines a precise volume between a special glass slide and a coverslip. By counting the total number of cells within this volume, the cell concentration within the specimen can be accurately determined. While more accurate than simply using a coverslip on a standard slide, the extra precision of this method is not usually required for successful Shandon Cytospin preparations.

A third method for determination of cell number is by use of a cell counter of the electronic volume sensing type (Coulter counter). This instrument can provide a precise evaluation of a cell sample. It does require sufficient amount of sample however, which may not always be available. It is common to determine the cell number of specimens using this instrumentation in the haematology laboratory. Any specimen obtained from the haematology laboratory may include cell number (or concentration) information.

It is important to recognise that samples that are quite concentrated should be handled carefully. For example, if the specimen is so concentrated that only a single drop may be required, the addition of a second drop will double the cell concentration. It is preferable to work with specimens that are dilute enough that five or six drops are required for the preparation. With such a specimen, the addition of one more drop will not be as likely to result in overlapping cells in the final Shandon Cytospin preparation.

While it is common to discuss sample sizes in terms of 'drops', it is important to realise that drop size will be dependent on the type of pipette used to transfer the specimen. As an example, a Falcon 3 ml transfer pipette will dispense approximately 0.5 ml in 15 drops. A six inch glass Pasteur pipette will dispense 0.5 ml in 20 drops. It is advisable to standardise on a single pipette type for all cytological preparations, otherwise 'drops' will be a meaningless measurement.

Specimen Enrichment

Many cytological specimens arrive in the laboratory as relatively large fluid volumes, many with relatively few cells. Such specimens must obviously be concentrated prior to use of the Shandon Cytospin. Such concentration requires the use of a general laboratory centrifuge. The amount of the specimen submitted will determine the size centrifuge tubes that will be necessary. In some cases, the original specimen may need to be split between many tubes. As an example, if a centrifuge is available which can hold 50 ml tubes, and the total amount of specimen is 100 ml or less, then two tubes can concentrate the entire specimen. Should the specimen amount to 150 ml, then four tubes would be required. By adding more tubes it is possible to concentrate specimens which are quite large in volume. To sediment the cells, the centrifuge should be spun at 2000 to 3000 rpm for 10 to 20 minutes. Avoid spinning at excessive speeds. This will only damage cells, and pack them into such tight buttons they will be difficult to process further. Centrifuges with swinging buckets will generally require slightly higher speeds than angle headed centrifuges.

After conventional centrifugation, any cells present in the sample would appear as a packed button in the bottom of the tube. The clear supernatant above the cell button should be carefully aspirated or poured off, leaving a volume of fluid approximately equal to the volume of the packed cell button.

The fluid that is aspirated or poured off may be discarded, using any common technique to render it harmless (sterilisation, fixation etc). This fluid should only be discarded after it is determined that the cells within have indeed been retained.

The packed cell button in the bottom of the centrifuge tube should be thoroughly mixed with the residual fluid that was not removed. This is done either by use of a vortex mixer, or by gentle agitation of the tube. The result is a concentrated cell suspension, suitable for cell number determination, and subsequent preparation with the Shandon Cytospin.

Specimen Dilution

Cytology specimens often are submitted to the laboratory with a cell concentration that is too high for Shandon Cytospin preparations until diluted. Such specimens are common from bone marrow, lymphoid aspirates, and many fine needle aspirates. These concentrated specimens should first be evaluated for cell number, using any of the previously described techniques. The specimen should then be diluted to an approximate cell concentration by addition of a balanced electrolyte solution. It is important to use a fluid that has a proper osmolarity, in order not to introduce structural changes in the cell sample. Simple solutions of Sodium Chloride (0.9% saline) are unsuitable as diluents - they produce rapid changes in nuclear chromatin and interfere with subsequent cytological evaluation.

Many of the solutions commonly used in tissue culture laboratories are suitable diluents, such as Earle's balanced salt solution, or Hank's balanced salt solution. In many cases, if the cell suspension submitted to the laboratory has been collected in one of these diluents, or has undergone significant processing in such salt solutions, it may be advisable to add some protein to the diluent. Either human serum or a solution of bovine serum albumin may be used. The usual concentration of these solutions is 1 to 30 percent. The protein solutions of very high concentration are usually used by dropwise addition to the sample just prior to or during loading of the Shandon Cytospin funnels.

Loading the Shandon Cytospin Sample Chambers

The sample chambers hold a maximum of 0.5 ml of specimen and should hold no less than 0.1 ml. Do not place more than 0.5 ml of sample in each standard EZ Cytofunnel sample chamber (up to 6ml for EZ Megafunnels). Additional sample would simply be thrown to the top of the chamber during Shandon Cytospin operation, and could not be deposited on the slide. It is recommended that the sample chambers are loaded after they have been assembled and inserted into the sealed head. The design of the chamber assemblies and the sealed head ensures that the sample chambers tilt in such a manner that the specimen will not contact the slide or the filter card prior to starting the Shandon Cytospin. The specimen must never contact the slide or filter before the Shandon Cytospin is started.

The operator must be careful during loading not to forcibly inject the sample into the sample chamber. The sample should be eased into the sample chamber slowly, allowing ample opportunity for air to be displaced by the sample. For concentrated cell suspensions which require only one or two drops of sample to obtain the correct cell concentration, it may be sometimes necessary to add additional diluent to bring the total volume in the sample chamber up to 0.5 ml. This addition can be done in the chamber as the samples are loaded. However, this requires care to avoid forcing sample into the slide / filter area and it is recommended that 'thick' specimens are diluted prior to being loaded into the Shandon Cytospin.

During loading of the sample chamber, the sample should be deposited directly in the bottom of the sample chamber. Avoid dripping the sample down the side of the sample chamber. Should sample be deposited on the walls of the chamber, rinse down with a drop of diluent. The object is to ensure that the entire sample is in the bottom of the sample chamber.

Selecting Time, Speed and Acceleration

The speed of operation of the Shandon Cytospin is dependent on the size of the cells or particles to be deposited on the slides. In general, average cellular specimens will require a speed of approximately 1000 rpm with medium acceleration. Very large cells or fragile cells may require a slower speed, such as 500 to 800 rpm with low acceleration. Specimens consisting of tiny objects such as bacteria may require much higher speeds, approaching 2000 rpm with high acceleration.

Time of Shandon Cytospin operation is also related to specimen type and to subsequent preparative steps. For most cytological preparations, it is desirable to avoid any possibility of air drying of the specimen. Therefore the time used for Shandon Cytospin operation is kept as short as possible, such as 3 to 4 minutes. For haematology and microbiology specimens that often are air dried prior to further processing, a longer time is used, often approaching ten minutes.

An appropriate Shandon Cytospin time will ensure fluid absorption. The cells on the slide should have a thin layer of fluid on their surfaces. Occasional specimens may be too thick to completely absorb in the filter paper during a normal time and speed setting. Such specimens may require special processing. An example is joint aspirations that contain hyaluronic acid, giving them a thick consistency. This can be reduced by adding a small amount of the enzyme hyaluronidase to the sample prior to operation of the cytocentrifuge.

Unloading the Sample Chambers

After the Shandon Cytospin stops, the specimens should be removed as quickly as possible. The lid of the Shandon Cytospin is opened, and the sealed head is removed and taken to the biological safety cabinet. The lid is opened, and the individual sample chamber assemblies are removed from the sealed head. The thumb pad release lever is pressed to open the slide support. The slide should be held horizontally on occasions where liquid remains, allowing any residual fluid to flood the slide. If there is a considerable amount of residual fluid, wait until some of it evaporates. However, do not allow the specimen to dry. Just before drying begins, place the slide in fixative, or spray with Shandon Cell-Fixx.

For specimens that do not contain excess fluid, quickly remove the sample chamber, remove the slide, and immediately place into fixative. (This is best achieved by easing the slide into the fixative, so as not to disturb the deposited cells).

Evaluation of Specimen to Assess Technique

After staining, the specimens can be evaluated to assess the preparative technique.

The ideal result is a monolayer of cells with minimal overlap, yet sufficiently concentrated that one does not have to search for cells in the preparation. The cells should display excellent morphology. There should be no evidence of stretching, or tearing of the periphery of cells. Such artefacts indicate excessive speeds or times of cytocentrifugation. In excellent preparations, there will be flattened nuclei with distinct chromatin patterns. Some cell types, such as columnar epithelial cells should retain their typical columnar

morphology. Distortion of their columnar shape indicates excessive speed or time of cytocentrifugation.

Occasionally one will see a specimen that has a pattern of cell deposition around the periphery of the deposition spot, with a loss of cells in the centre. This effect is due to an excess amount of residual fluid in the centre of the cell deposition area when the specimen is fixed. Because the cells in the centre of the area are quite wet, they wash off the slide as it is immersed into the fixative. The solution to this problem is to allow longer time for the slide to dry prior to fixation, and to be exceptionally gentle during immersion of the slide into the fixative.

Fixation

Fixation is used to preserve cell samples, to render them more easily stained, and to produce characteristic patterns of cell structure that are used to distinguish cell types. Cells continue their natural living processes after being removed from body sites. Since they no longer have their normal blood supply and other supporting environment, they will begin to degenerate as they run out of required nutrients and gases and begin to build up waste products. As these events continue, the cell activates internal repair mechanisms that eventually result in the cell digesting itself. This is called autolysis. The rate at which autolysis progresses is different for different cell types, but does mean that samples should be processed as quickly as possible. Autolysis can be slowed significantly by refrigeration, and samples may be held for some period of time at refrigerator temperature. Where practical however, specimens should be fixed or processed as soon as possible.

Fixatives are chemical agents that both kill the cell and stabilise its structure. The 'killing' also inactivates many of the enzyme systems of the cell, particularly those associated with autolysis. Fixatives therefore also function as preservatives, and well-fixed cytological samples essentially last indefinitely. Many specific chemicals can be used as fixatives, and each has specific properties that are desirable for certain types of study. These fixatives include those that produce chemical cross-links within the tissues, such as formalin, and those that precipitate cellular components

such as the alcohols. By far the most common fixative used in cytological studies is alcohol. Alcohol produces distinct nuclear chromatin patterns, and also serves to remove water from the cells. Shandon Cell-Fixx spray fixative is an example of an alcohol based cytological fixative which also contains Carbowax.

A disadvantage of alcohol fixatives is that they evaporate quickly, and therefore there is always the risk of permitting specimens to dry out. To avoid this, many laboratories use Saccomanno fixative, which is a mixture of 70% ethyl alcohol and 2% Carbowax (polyethylene glycol). The Carbowax in this mixture forms a coating over the specimen, helping protect from the effects of drying. The Carbowax is soluble in water, and so is dissolved in subsequent staining steps. Commercial versions of this fixative are available (for example Shandon Cytospin Collection Fluid).

When specimens must be transported over considerable distances, or when they cannot be processed immediately, it is advisable to fix with alcohol or with Saccomanno type fixative. This is done by adding an equal volume of fixative to the sample. If the specimen is large in volume, the sample should be centrifuged to concentrate the cells, and then fixed. Immediately after adding the fixative to the sample, the sample should be vigorously agitated to suspend the sample within the fixative.

Occasionally samples will be received that have been fixed in some other fixative such as formalin. These will have a different nuclear and cytoplasmic appearance if processed without exposure to alcohol. Such specimens can be concentrated, the formalin poured off, and then resuspended in Shandon Cytospin Collection Fluid. The result will be a specimen that is reasonably similar to those fixed in the alcohol fixative alone.

Fixation makes cells more rigid and less able to spread when placed in the Shandon Cytospin. Specimens that have been fixed prior to depositing on slides will require slightly higher speeds and longer times to achieve the same degree of spreading as seen in unfixed specimens. Occasionally

the laboratory will be asked to prepare specimens that have been held in fixative solutions for extended times. These specimens may be so rigid that it is difficult to get them to flatten on the slide. The addition of a small amount of glycerol to the specimen, allowing some 'soak' time, followed by use of the Shandon Cytospin, will usually result in a reasonable preparation.

Many laboratories prefer to fix all specimens during preparation. The usual protocol is to concentrate the specimen, then re-suspend in an equal volume of Shandon Cytospin Collection Fluid. For samples that must be diluted, the diluent can be fixative. These fixation steps are generally done just before adding the sample to the Shandon Cytospin sample chamber assemblies.

Whether the specimen has been fixed before deposition on slides or not, immediately after removing the slides from the Shandon Cytospin, they should be immersed in 95% alcohol to complete fixation and dehydration. Since the cells will still be wet, and will not have become totally bound to the glass slide, use care in this transfer. (Ease the slide into the fixative in the container). Many complaints of poor cell capture can be traced to lack of care in this step of the procedure.

Special Considerations

Cell Adhesion

Successful application of the Shandon Cytospin requires that cells adhere to the glass slides. For many routine applications, it is sufficient to use clean slides. Slides may be cleaned using alcohol. The increasing use of long staining techniques, such as immunostaining, may require additional ways to ensure adhesion of samples. The use of coated slides will increase cell retention and reduce the incidence of 'floaters' in the subsequent staining baths.

Cytology

The majority of the procedures previously discussed apply to cytological specimens. However, there are a number of specific specimen types that require special processing. Often, the cytology specimen will contain clots, fibrin webs, or tissue fragments. These will all interfere with the Shandon

Cytospin preparations. Small floating clots and fragments should be removed with forceps. These may be saved for cell block procedures. Fibrin webs are generally too friable to be removed intact. These are most easily removed by twirling a glass or wooden rod in the specimen. The fibrin web is wound onto the rod, and in the process, many of the trapped cells will float free. After winding on the fibrin, it is pressed gently against the side of the container to squeeze out as much of the trapped fluid and cells as possible. As with all cell manipulation techniques, it is important to be gentle to avoid excessive cell damage.

Cytological samples may contain considerable quantities of mucus. This a very thick mass that is difficult to dilute or concentrate, and becomes a rubbery mass on fixation. Such specimens should be processed prior to fixation. A common way to break up mucus is to mix with an equal part of Saccomanno-type fixative (for example Shandon Cytospin Collection Fluid) and immediately blend in a small blender. Three to five seconds is usually sufficient. The blending procedure should be done in a biological safety cabinet. After blending, the sample should be homogenous and non-stringy, and can be deposited using the Shandon Cytospin. Certain chemicals also react with mucus to produce liquefaction, such as acetylcysteine (Boccato, 1981). A commercial product of this type is Shandon Mucolexx, which contains not only a mucolytic agent but Saccomannotype fixative as well.

Bloody or serosanguineous specimens may contain so many erythrocytes that examination of cytological preparations is difficult, and when the specimen is diluted sufficiently to obtain monolayer preparations, the cells of interest are difficult to locate. Red blood cells may be removed by gradient centrifugation or by various lysing procedures. Lysing techniques are commonly used for leukocyte counting on cell counters that employ sensing orifices. CytoRich Red collection fluid completely destroys erythrocytes. The large amounts of haemoglobin released from the red cells may interfere with subsequent staining. It can be removed by several washing steps using a conventional centrifuge.

Gradient centrifugation is based on a density difference between red cells and other cells within a specimen. Commercial gradients are available, and are based on mixtures of Ficoll and Hypaque. The sample is layered onto the gradient in a centrifuge tube and then the tube is centrifuged. The red cells will migrate through the gradient, and will also be haemolyzed. The remaining cells will stay on top of the gradient, and can be removed for subsequent processing.

Haematology

The primary difference between cytological and haematological preparations is the routine use of air dried preparations in haematology. In most cases, haematology will also have available a specific cell count derived from an electronic volume sensing instrument. This permits a defined solution and allows precise control of cell number on the final Shandon Cytospin preparation.

Haematological samples are routinely diluted to obtain samples of the correct cell concentration. The diluent used is commonly one of the balanced salt solutions. Thermo recommend that coated slides are used to increase adhesion of the cells to the slide, and to avoid the deleterious effects of the high concentration as the diluent evaporates during the drying of the slide.

Since haematology specimens are to be air dried, they should not be flooded with any residual liquid after use of the Shandon Cytospin. For haematology, after the chambers are removed from the Shandon Cytospin sealed head, any residual fluid is allowed to drain back into the sample chamber. The thumb pad release lever is then pressed to open the slide support and remove the slide. The disposable cytochamber is properly discarded following laboratory safety procedures. The slide is then air dried. As with all air dried preparations, the more rapidly drying occurs, the better. Drying may be accelerated by gentle heating of the slides.

Urine Specimens

Specimens derived from urine are typically high volume fluids with few cells or particles. These specimens must be concentrated by conventional centrifugation prior to cytological examination. If appropriate, a Shandon EZ Megafunnel can be used. Often urine samples contain particles that are not cellular but are precipitated phosphate salts. It is often suggested that one can dissolve these particles by acidifying the specimen with a few drops of acetic acid. While this will cause the salts to dissolve, acetic acid is also a classic fixative. It will cause chromatin condensation in the cell nuclei, and will also produce significant cell swelling. Acetic acid is a component of Carnoy's fixative. If acetic acid is used, its effects must be accounted for in subsequent evaluation of the specimen.

Microbiology

Many microbiology samples are quite similar to cytological samples. They will contain cells and the microbiologist is interested in the association of bacteria or viruses with the cells. The Shandon Cytospin can also be used to directly deposit samples of bacteria onto slides. The advantages of this use is that the deposited bacteria are generally more concentrated than after simple smearing, and they are all located in a defined area of the slide. Due to the small size of the bacteria, the Shandon Cytospin is generally operated at speeds of 2000 rpm for five to ten minutes with high acceleration.

Many of the techniques used for localisation of viruses or bacteria require the use of fixatives other than alcohol based ones. In general, techniques using immunostaining or nucleic acid probes will specify the use of aldehyde fixation, such as formaldehyde (paraformaldehyde) or gluteraldehyde. These do not affect the operation of the Shandon Cytospin, since they are applied to the slide after the cells, bacteria, or viruses are deposited on the slide. It is important to use a slide adhesive or preferably coated slides for these preparations.

The Use Of The Shandon Cytospin For Haematology And Other Clinical Microscopy Specimens

These guidelines outlining the Use of the Shandon Cytospin for Haematology and other Clinical Microscopy Specimens have been prepared by:

Nicky Sherwood, MT (ASCP) and Joanne Cornbleet (MD), Clinical Haematology Laboratory, Stanford University Medical Centre

Introduction

This section is designed to provide general guidelines for the use of the Shandon Cytospin in haematology and clinical microscopy.

Uses and Applications

The Shandon Cytospin has a wide range of applications in clinical microscopy, some of which are shown below.

Table 1 Uses and Applications

Uses	Clinical Applications
Romanowsky-stained cytology of CSF and other body fluids	Evaluation of possible infection or presence of malignancy
Gram stain and other special stains of CSF and body fluids	Detection of infectious agents - characterization of malignant cells
Slide preparation from ficoll-hypaque cell isolates	Provides slides for morphology, cytochemical staining (e.g. myeloperoxidase, non-specific esterase), and immunocytochemical or immunofluourescent assays (e.g.TdT). Used to characterize leukemias and lymphomas
Cell surface and cytoplasmic marker studies using monoclonal antibodies	Classification of leukemias and lymphomas
Urine eosinophils	Evaluation of drug-induced nephritis, allergic cystitis, and renal transplant rejection
Urine hemosiderin	Confirmation of severe intravascular hemolysis and chronic iron overload

Methodology Guidelines

When first setting up the Shandon Cytospin for use, it is helpful to establish a standard procedure, i.e. the amount of specimen per slide, rpm and minutes centrifuged, and maximum number of white blood cells per litre and red blood cells per litre, above which dilutions would be necessary.

- 1 Determine the red cell and white cell count of the sample according to established methods.
- 2 Using a 'standard' amount of specimen, (e.g. 5 drops or approximately 0.25 ml) make serial dilutions of a highly cellular specimen to determine the maximum number of white blood cells and red blood cells that can be present in a specimen before dilutions are necessary. Some tests may require more cellular slides than others.
- 3 Experiment with a range of speeds to see which gives the most desirable morphology for the procedure involved. Establish the minimum number of minutes required to spin the entire standard amount of specimen onto the slide.
- 4 The following is an example of a standard procedure for preparing slides for a white cell differential with Wright stain:

Use 5 drops of specimen per Shandon Cytospin chamber. Dilute sample to obtain a white cell count less than 0.5×10^9 / l and a red cell count less than 0.005×10^{12} / l. Centrifuge at 700 rpm for 5 minutes with medium acceleration.

Table 2 Dilution Chart for WBC Dilution

WBC Count (x 10°/ litre)	Dilution
0 - 0.05	None
0.05 - 0.1	1/2
0.1 - 0.15	1/3
0.15 - 0.2	1/4
0.2 - 0.25	1/5
0.25 - 0.3	1/6

If the red cell count which results from the above WBC dilution is greater than 0.005×10^{12} / l, calculate the further dilution necessary to bring the red cell count below 0.005×10^{12} / l. Use this dilution regardless of the fact that the white cell count may be very low.

- 5 Use a disposable EZ Single Cytofunnel.
- 6 Always place the EZ Cytofunnel assembly into the Shandon Cytospin head before adding anything to the sample chamber. Check that the assembly pivots freely in the metal support plate.
- 7 Use coated slides to increase the adhesion of the cells to the slides. Cap the sample chambers.
- 8 Lock the lid onto the sealed head, transfer the sealed head to the Shandon Cytospin, and close the lid. Never snap the lid of the Shandon Cytospin head down onto the bowl while the assembly is sitting on the drive shaft, as this may damage the shaft.
- 9 Program the Shandon Cytospin to the standard number of rpm and minutes and start the unit. Fragile cells may require a lower rpm setting and low acceleration to maintain morphology.

- 10 When the 'End of Run' tune has ended, remove the sealed head and transfer it to a hood before opening.
- 11 Check the sample chambers to see if all of the specimen has spun onto the slide. Make sure that any remaining specimen in the chamber does not flow onto the slide as it is removed from the assembly. Should this occur, the cells will not remain spread out on the slide and may therefore overstain.

Suggestions for Optimal Shandon Cytospin Technique

- Use coated slides.
- 2 Do not make a push smear, even when the cell counts are high. Large malignant cells are difficult to identify on push smears because they may aggregate at the feather edge or stain darkly in the thick portion of the smear.
- 3 Use a disposable EZ Cytofunnel and do not let unspun specimen wet the slide.
- 4 If fibrin strands or other contaminated materials are present, they may clog the filter card and prevent absorption of the specimen. Better slides may sometimes be obtained if an aliquot of the specimen is first diluted in saline, centrifuged, and then the cells are re-suspended in saline to the original volume.
- 5 If synovial fluid is extremely viscous, a small amount of hyaluronidase may be added to liquefy the sample before processing.
- 6 If a fluid is clotted, Shandon Cytospin slides may be prepared from a suspension of the clotted material as well as from the unclotted fluid to increase the possibility of detecting malignant cells.

Methodology Guidelines

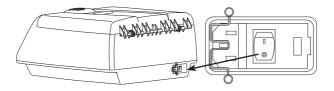
Apéndice C Instrucciones de transporte

Siempre que vaya a transportar la citocentrífuga Shandon Cytospin 4, será necesario embalarla de la forma siguiente.

Embalaje

Nota La Cytospin 4 (y el rotor sellado) se debe limpiar y descontaminar a fondo antes de enviarla a Thermo para su mantenimiento o devolución, y deberá ir acompañada de la Declaración de devolución del producto según las normas de seguridad (consulte la página 111).

Pulse el lado O (apagado) del interruptor principal para cortar el suministro eléctrico.



Desconecte el cable de la toma de corriente y de la fuente de alimentación.

Coloque el rotor sellado en el equipo y ponga el disco protector de espuma encima de la tapa del rotor. Cierre la tapa de la Shandon Cytospin. Asegúrese de que la tapa está bien sujeta.



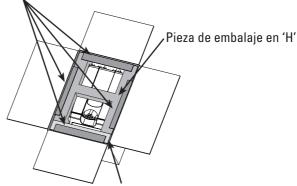
Coloque el Manual de operaciones en la caja del producto y ponga encima el equipo.

Coloque la pieza de embalaje en forma de 'H' sobre el equipo, y encima las cuatro piezas de refuerzo de cartón.

Introduzca el cable eléctrico, junto con el rotulador y la varilla de apertura manual, en la caja pequeña y colóquela en la parte frontal de la caja principal.

Cierre la caja y precíntela.

Piezas de refuerzo de cartón



Posición de la caja pequeña

DECLARACIÓN DE SEGURIDAD DE DEVOLUCIÓN DEL PRODUCTO

Parte 1 CERTIFICADO DE DESCONTAMINACIÓN

Todo equipo o componente del mismo debe limpiarse antes de su devolución y, si fuera necesario, debe ir acompañado de un Certificado de descontaminación completo. Si el equipo o cualquiera de sus componentes se recibe sin limpiar, o si Thermo Fisher Scientific lo considera peligroso, el equipo o componente se devolverá sin reparar y el cliente correrá con los gastos.

Es importante enviar el certificado por correo o por fax, y adherir una copia al exterior del paquete. Los paquetes no se abrirán hasta que la empresa esté en posesión del certificado correspondiente. Este formulario **DEBE** rellenarlo el cliente, **NO** los empleados o distribuidores de Thermo.

Si el equipo o cualquiera de los componentes que se van a devolver a Thermo ha estado expuesto a, o en contacto con, materiales potencialmente patógenos o radiactivos, será imprescindible descontaminarlo.

Los procedimientos de descontaminación establecidos se indican en las directivas europeas de salud y seguridad. Para evitar malentendidos, todos los equipos o componentes devueltos deben acompañarse de un certificado que indique lo siguiente:

no ha estado expuesto a materiales patógenos,
radiactivos ni peligrosos y que se ha limpiado:

NÚMERO DE RMA.....

TRANSPORTISTA

A LA ATENCIÓN DE

Certificamos que el equipo: Modelo	ha estado expuesto a materiales pa radiactivos o peligrosos, pero se ha desc limpiado según los procedimientos auto exposición a:	contaminado y rizados tras la
¿Se ha utilizado el equipo para trabajar con encefalopatías espongiformes transmisibles en humanos o animales, por ejemplo, la enfermedad de Creutzfeld-Jacob, cenurosis o EEB? En caso afirmativo , póngase en contacto con el servicio técnico de Thermo antes de adoptar medidas. SÍ / NO		
Firmado	Firmado	
Nombre (mayúsculas)	Compañía/Organización	
Dirección completa		
Parte 2 DIRECTRICES PARA LA DEVOLUCIÓN DE EQUIPOS		
Utilice la lista siguiente (parte izquierda) para asegurarse de que el equipo devuelto está listo para su transporte y, a continuación, introduzca los datos (abaio a la derecha).		

Thermo Fisher Scientific, 93-96 Chadwick Road, Astmoor, Runcorn, Cheshire, WA7 1PR, Reino Unido Tel.: +44 (0) 1928 562600; Fax: +44 (0) 1928 562627; www.thermo.com/pathology.

Se han eliminado del equipo todos los reactivos/parafina,

incluidos los purgadores de vapor (si procede).

El equipo lleva abrazaderas de transporte, como se

El equipo se ha embalado en su embalaje original.

Los accesorios están fijos/detallados.

indica en el Manual de operaciones.

Declaración de seguridad de devolución del producto

Apéndice D Lista de reactivos autorizados

En esta sección figuran todos los reactivos autorizados por Thermo Shandon para el uso con la citocentrífuga Shandon Cytospin.

Si desea usar algún reactivo que no figura en la lista, póngase en contacto con su representante de Thermo para que le asesore.



CONSULTE LOS REACTIVOS UTILIZADOS EN LA HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DE MATERIALES (MSDS). ▲

Lista de reactivos

- Alcohol metilado industrial (IMS) / Alcohol reactivo (máximo del 5% de metanol en etanol)
- Alcohol isopropílico (IPA)
- Etanol
- Líquido de cultivo Cytospin[®]
- Líquido de transporte Mucolexx[®]
- Líquido de cultivo rojo CytoRich®
- Formal-fixxTM
- Reactivos Cytoblock®

Agentes limpiadores •

- Detergente doméstico de uso general o comercializado (diluido conforme a las instrucciones del fabricante)
- 10% de hipoclorito sódico (10% de lejía comercial)
- La mayoría de los desinfectantes de marca usados habitualmente en los laboratorios, como Clorox®, o los desinfectantes comercializados diluidos con tampón de bicarbonato al 0,3% con pH 7.0 a 8.0 pH deberían ser adecuados (pruebe primero en una zona pequeña y oculta de la caja del equipo).
- Agua

AVISO

No utilice xileno, tolueno ni ningún otro disolvente similar.

AVISO

No utilice detergentes que no sean aptos para metales no ferrosos (por ejemplo, Decon 90) en la unidad del rotor sellado. ▲

Lista de reactivos autorizados

Índice alfabético

Símbolos	teclado de control 31	
[⚠] símbolo de advertencia 4	espera 32	
símbolo de advertencia 4	inicio 31	
[🔬] símbolo de peligro biológico 4	parada 32	
	teclado de programación 27	
A	aceleración 30	
accesorios autorizados 7	advertencia de 'fin de proceso' 30	
advertencias de seguridad 5	almacenamiento de programa 30	
advertencia de tolueno 113	programa 28	
advertencia de xileno 113	tiempo 29	
agentes limpiadores, autorizados 113	velocidad 28	
altura 11	visor de estado 32	
anchura 11	tapa abierta 33	
apertura de emergencia 14	tapa cerrada 33	
	convención de cableado 17	
В	Cytofunnel 20	
bienvenida 5	EZ doble 21	
advertencias de seguridad 5-7	tiempo máximo de procesamiento 22, 46	
C	volumen máximo 21	
L .	EZ mega 23	
cambio de las juntas	velocidad máxima 25, 47	
junta cónica 60	volúmenes máximos 23	
junta de la tapa del rotor sellado 62	EZ sencillo 20	
junta tórica del rotor sellado 61	filtro blanco (alta permeabilidad) 21	
carga y descarga	filtro marrón (baja permeabilidad) 21	
consideraciones de seguridad 6	tiempo máximo de procesamiento 21	
cierres de seguridad biológica	volúmenes máximos 21	
advertencia de seguridad 6	volúmenes máximos 21, 23, 43	
códigos de error 65–66	D	
controles 27	D	
panel de control principal 27	declaración de conformidad 83	
	declaración de garantía 81	

Índice alfabético

declaración de seguridad de devolución del	convención del interruptor 75	
teclado de programación 27	detalles de programación 75	
aceleración 30	eléctricos 75	
advertencia de 'fin de proceso' 30	tensiones de alimentación 75	
almacenamiento de programa 30	entorno 76	
programa 28	altitud 76	
tiempo 29	categoría de sobretensión 76	
velocidad 28	grado de contaminación 76	
descripción 9	humedad 76	
descripción general 9	información general 76	
gráfico anotado 9	temperatura de funcionamiento 76	
descripción de símbolos 4	temperatura de transporte/	
[<u>M</u>] símbolo de advertencia 1 4	almacenamiento 76	
[warning] símbolo de advertencia 2 4	físicos 75	
[🛕] símbolo de peligro biológico 4	anchura 75	
descripción de símbolos de advertencia 4	altura 75	
descripción de símbolos de peligro	peso 75	
biológico 4	profundidad 75	
desembalaje 12	fusibles 75	
dimensiones	niveles de potencia acústica 75	
altura 11	números de pieza 76	
anchura 11	EZ Cytofunnel 20	
profundidad 11	doble 21	
direcciones de contacto 2	tiempo máximo de procesamiento 22, 46	
F	volúmenes máximos 21	
E	mega 23	
embalaje 109	velocidad máxima 25, 47	
especificaciones y accesorios 75	volúmenes máximos 23	
accesorios y repuestos 77	sencillo 20	
accesorios de la centrífuga 77	filtros blancos (alta permeabilidad) 21	
otros accesorios 77	filtros marrones (baja permeabilidad) 21	
repuestos generales 79	tiempo máximo de procesamiento 21	
repuestos para la centrífuga 77	volúmenes máximos 21	
especificaciones 75	volúmenes máximos 43	

F	dimensiones
funcionamiento 35	altura 11
ajustes de aceleración 48	anchura 11
ajustes de tiempo 46	profundidad 11
ajustes de velocidad 46	encendido y apagado 18
almacenamiento de programas 45	apagado 19
carga de cámaras citológicas desechables	encendido 18
Cytofunnel 40	instrucciones para levantar el equipo 12
carga de la Shandon Cytospin 4 40	requisitos de emplazamiento 11
carga del rotor sellado 42	requisitos eléctricos 16
códigos de error, sonidos de aviso y advertencias 49	convención de cableado 17
	requisitos de conexión a tierra de
descarga de la Shandon Cytospin 4 49	protección 18
funcionamiento de la Shandon Cytospin 4 38	Instrucciones de transporte 109
inicio de un proceso 48	declaración de seguridad de devolución
selección de programas 44	del producto 111
tabla de fuerzas 'g' 37	embalaje 109
0	instrucciones para levantar el equipo 12
G	L
gráfico anotado 9	limpione v montonimionto 51
gráfico de flujo de trabajo estándar 85	limpieza y mantenimiento 51
guía metodológica 87–108	cambio de las juntas 60
	junta cónica 60
1	junta de la tapa del rotor sellado 61
índice 3	junta tórica del rotor sellado 61
índice alfabético 115	limpieza y mantenimiento periódicos 54
instalación y configuración 11	base de rotor sellado 57
accesorios 20	panel frontal 55
Shandon EZ Double Cytofunnel 21	placa portalámina 58
Shandon EZ Megafunnel 23	tapa, caja, base cuadrada y revestimiento del recipiente 55
Shandan E7 Single Cytofunnel 20	revestimiento dei recipiente))
Shandon EZ Single Cytofunnel 20	tama da matam callada 50
apertura y cierre de la tapa de la Cytospin 4 13	tapa de rotor sellado 59
	unidad de rotor sellado 56
apertura y cierre de la tapa de la Cytospin 4 13	*

Índice alfabético

agentes limpiadores 113 lista de reactivos 113

M

materiales explosivos, advertencia 6 material inflamable, advertencia 6 materiales químicamente reactivos, advertencia 6

P

peso 6 producto 111 requisitos 7 profundidad 11

R

reactivos no autorizados 113
requisitos de conexión a tierra 6, 18
requisitos de emplazamiento 11
resolución de problemas 63
T - Cantidad 69–71
Tabla 1 - Funcionamiento del equipo 64
Tabla 2 - Códigos de error 65–66
Tabla 5 - Pauta extraña de distribución de la población de células 72
Tabla 6 - Resumen 73
rotor sellado
apertura y cierre 14

S

Shandon EZ Double Cytofunnel 21 Shandon EZ Megafunnel 23 Shandon EZ Single Cytofunnel 20

T

tabla de fuerzas 'g' 37 teclado de control 31 espera 32 inicio 31 parada 32

U

uso previsto de la Shandon Cytospin 45

V

visor de estado 32 tapa abierta 33 tapa cerrada 33

Direcciones de contacto

Diagnósticos clínicos Patología anatómica 93-96 Chadwick Road Astmoor, Runcorn Cheshire, WA7 1PR, Reino Unido Tel.: +44 (0) 1928 562600

Fax: +44 (0) 1928 562627 www.thermo.com/pathology

Diagnósticos clínicos Patología anatómica 171 Industry Drive Pittsburgh PA 15275, EE.UU. Tel.: 1-800-522-7270

Fax: +1 269-372-2674 www.thermo.com/pathology